Agilent 1260 Infinity
バイナリ LC

システム
ユーザーガイド

Agilent Technologies

注意

© Agilent Technologies, Inc. 2006, 2008-2011, 2013

本マニュアルは米国著作権法および国際著作権法によって保護されており、Agilent Technologies, Inc. の書面による事前の許可なく、本書の一部または全部を複製することはいかなる形式や方法（電子媒体による保存や読み出し、外国語への翻訳なども含む）においても、禁止されています。

マニュアル番号

G1312-96303

エディション

02/2013

Printed in Germany

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

本製品は、システムが適切な規制機関で登録を受け関連する規制に準拠している場合、ビトロ診断システムのコンポーネントとして使用できます。それ以外の場合は、一般的な実験用途でのみ使用できます。

ソフトウェアリビジョン

本ガイドは、Agilent OpenLAB CDS のリビジョン A.01.04 に適用されます。

Windows ® は、Microsoft Corporation の米国の登録商標です。

保証

このマニュアルに含まれる内容は「現状のまま」提供されるもので、将来のエディションにおいて予告なく変更されることがあります。また、Agilent は、適用される法律によって最大限に許可される範囲において、このマニュアルおよびそれに含まれる情報に関して、商品性および特定の目的に対する適合性の暗黙の保証を含みそれに限定されないすべての保証を明示的か暗黙的かを問わず一切いたしません。Agilent は、このマニュアルまたはそれに含まれる情報の所有、使用、または実行に付随する過誤、または偶然的または間接的な損害に対する責任を一切負わないものとします。Agilent とお客様の間に書面による別の契約があり、このマニュアルの内容に対する保証条項がこの文書の条項と矛盾する場合は、別の契約の保証条項が適用されます。

技術ライセンス

このマニュアルで説明されているハードウェアおよびソフトウェアはライセンスに基づいて提供され、そのライセンスの条項に従って使用またはコピーできます。

安全に関する注意

注 意

注意は、危険を表します。これは、正しく実行しなかったり、指示を順守しないと、製品の損害または重要なデータの損失にいたるおそれがある操作手順や行為に対する注意を喚起します。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、**注意**を無視して先に進んではなりません。

警 告

警告は、危険を表します。これは、正しく実行しなかったり、指示を順守しないと、人身への傷害または死亡にいたるおそれがある操作手順や行為に対する注意を喚起します。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、警告を無視して先に進んではなりません。

本ガイドの内容

本書では、Agilent 1260 Infinity バイナリ LC について説明します。

1 Agilent 1260 Infinity Binary LC - 製品説明

この章では、1260 Infinity Binary LC の特徴について説明します。

2 概要

本章では、Agilent 1260 Infinity Binary LC とその基盤となっている概念について紹介します。

3 Agilent 1260 Infinity Binary LC の最適化

この章では、理論の適用方法と、LC システムの特徴を活かして最適分離を達成する方法について説明します。

4 システムの設定とインストール

この章では、ソフトウェアのインストール、モジュールの取り付け、システム運用の準備について説明します。

5 クイックスタートガイド

この章では、1260 Infinity Binary LC によるデータ取込とデータ分析について説明します。

6 付録

この章では、安全性、法律、ウェブ、およびメソッドの設定に関する追加情報を記載しています。

目次

1 Agilent 1260 Infinity Binary LC - 製品説明 7

Agilent 1260 Infinity Binary LC の特徴 8
システムコンポーネント 10
仕様 22

2 概要 27

液体クロマトグラフィで、より小さな粒子を使用することの理論的根拠 28
小粒径カラムの利点 34
摩擦熱 37

3 Agilent 1260 Infinity Binary LC の最適化 39

最適ディレイボリュームの設定方法 40
注入量を増加させる方法 47
サイクルタイムを短縮する方法 49
キャリーオーバを最小にする方法 52
高分離度を達成する方法 54
感度を向上させる方法 61
カラムの詰まりを回避する方法 66

4 システムの設定とインストール 69

ソフトウェアのインストール 70
モジュールの取り付け 72

5 クイックスタートガイド 83

クイックスタートガイドについて 84
システムの準備 85
Method and Run Control（メソッド & ランコントロール）ビュー内のデータ取込 90
データ分析 98

6 付録 103

安全に関する情報 104
溶媒情報 107
アジレントのウェブサイト 112
メソッド全体の編集を使用したメソッドの設定 113

目次

1 Agilent 1260 Infinity Binary LC - 製品説明

Agilent 1260 Infinity Binary LC の特徴 8
システムコンポーネント 10
1260 Infinity バイナリポンプ (G1312B) 11
1260 Infinity ハイパフォーマンスデガッサ (G4225A) 14
1260 Infinity ハイパフォーマンスサンプラ (G1367E) 15
1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C) 17
1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212B) 19
1200 Infinity シリーズ Quick Change バルブ 21
仕様 22

この章では、1260 Infinity Binary LC の特徴について説明します。

Agilent 1260 Infinity Binary LC の特徴

1260 Infinity Binary LC の設計コンセプトは、超高速で高分解能の分離機能を実現しながら標準の HPLC アプリケーションのためのすべての機能を備える、液体クロマトグラフを提供することにあります。したがって、ユーザーが従来の機器で構築した HPLC および UHPLC のメソッドと完全に互換性があります。サブ 2 マイクロン (STM) 粒子を使用すると、高流量になるかカラムが長くなるため、カラムを通して移動相をドライブするには付加圧力を要することになります。1260 Infinity Binary LC の流路は、背圧が最小限となるように最適化され、さらに ZORBAX RRHT カラムは、他の STM カラムよりも背圧が大幅に低減される粒度分布設計になっています。

Agilent 1260 Infinity Binary LC の設計の特徴と利点を以下に示します。

- コンフィグレーションが可能なディレイボリュームは、1260 Infinity バイナリポンプを 0.05 から 5 mL/min までの流量と 600 bar までの圧力で使用した場合に 120 µL まで低下させることができ、ナロー ボア カラム (2.1 mm の内径) から標準ボアカラム (4.6 mm の内径) までに適用できる汎用性を実現します。
- 1260 Infinity バイナリポンプの標準ディレイボリュームコンフィグレーションでは、性能の低下やクロマトグラフパターンの変更を伴うことなく、UHPLC に加えて従来の HPLC のメソッドの実行が可能です。
- 1260 Infinity ハイパフォーマンスサンプラの次世代のフロースルー設計により、サンプル ループを変更することなく、広範囲の注入量 (0.1 ～ 100 µL) で極めて優れた精度が得られます。この設計により、高サンプル処理数、低キャリーオーバ、高速注入サイクルを実現しています。
- 特定のカラムでは 100 ° C まで高温にできるため柔軟な選択が可能になり、溶媒の粘性を低下させて分離をさらに高速化することができます。
- 1290 Infinity カラム コンパートメントには、低エクストラカラムボリューム用の異なるヒータ (1.6 µL) と冷却素子 (1.5 µL) を取り付けることができます。温度は、周囲温度 -10 ° C から 100 ° C までの間で調整できます。
- 1290 Infinity カラム コンパートメントの新しいプルアウトバルブドライブの設計とユーザーが交換可能な Quick-Change バルブにより利便性

が向上するとともに、超ハイスループット、マルチメソッド、および自動メソッドの開発ソリューションへの道が開けます。

- 低分散チューブキットと低容量フロー セルが、ナロー ボアカラムのピーク分散を最小限に抑えます。
- 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器の新しい光学設計により、ベースラインの堅牢性と、80 Hz までのデータレートでの高速スペクトル取込が実現します。
- 内径が 2.1 、3.0 、および 4.6 mm のカラムとともに使用できる、異なる UV 検出器フロー セルを使用できます。たとえば、超高感度検出に利用可能な 60 mm の光路長（通常ノイズは < ± 0.6 µAU/cm）を有する画期的な Agilent Max-Light カートリッジフロー セルなどがあります。

1100 シリーズまたは 1200 シリーズから Agilent 1260 Infinity バイナリ LC へ段階的にアップグレードすることができます。たとえば、1100 シリーズ検出器または 1200 シリーズカラムコンパートメントを、引き続き 1260 Infinity バイナリポンプとともに使用することもできます。

システムコンポーネント

1260 Infinity Binary LC は多岐にわたるシステムコンフィグレーションが可能なため、個別のアプリケーション要件のニーズに合わせることができます。このマニュアルには、いくつかのコンフィグレーションの詳細が記載されています（『「システムの設定とインストール」69 ページ』を参照）。このあとの各セクションで説明されているモジュールは、1260 Infinity Binary LC の標準的なコンポーネントです。これらのコアコンポーネントに加えて、個別のソリューションを特定のアプリケーションに使用できます（一部は「最適化」の章に記載されています）。

1260 Infinity バイナリポンプ (G1312B)

バイナリポンプは、1 つのハウジングに内蔵された 2 台のポンプから構成されます。高圧混合での 2 液グラジエント送液が可能です。低流量アプリケーションに対して、あるいは一時的に最小のボリュームが必要な時は、パルスダンパとミキサーをバイパスできます。このポンプは高分離能 2.1 mm ID カラムによるハイスループット高速グラジエント分析に適しています。0.1 - 5 mL/min で耐圧 600 bar での送液が可能です。溶媒切り替えバルブ (オプション) を使用すると、チャンネルあたりに 2 つの溶媒の中の 1 つの溶媒からバイナリ混合 (アイソクラティックまたはグラジエント) を行うことができます。また、高濃度の緩衝液に使用するために、アクティブシールウォッシュ (オプション) が利用可能です。

動作原理

バイナリポンプは、2 チャネルのデュアルピストン直列型設計で、溶媒送液システムに要求されるすべての必須機能を装備しています。最大 600 bar の圧力を発生できる 2 つのポンプアセンブリによって、溶媒の計量と高圧側への送液が実行されます。

各チャンネルは、ポンプドライブ、ポンプヘッド、交換式カートリッジの付いたアクティブインレットバルブ、およびアウトレットバルブを含むポンプアセンブリで構成されます。2 つのチャネルが小容積のミキシングチャンバに混合され、このミキシングチャンバはリストリクションキャピラリコイルを介してダンパユニットとミキサーに接続されます。ポンプ圧力は、圧力センサによってモニタリングされます。ポンプシステムのプライミングに便利なように、PTFE フリット内蔵のパージバルブがポンプアウトレットに取り付けられています。

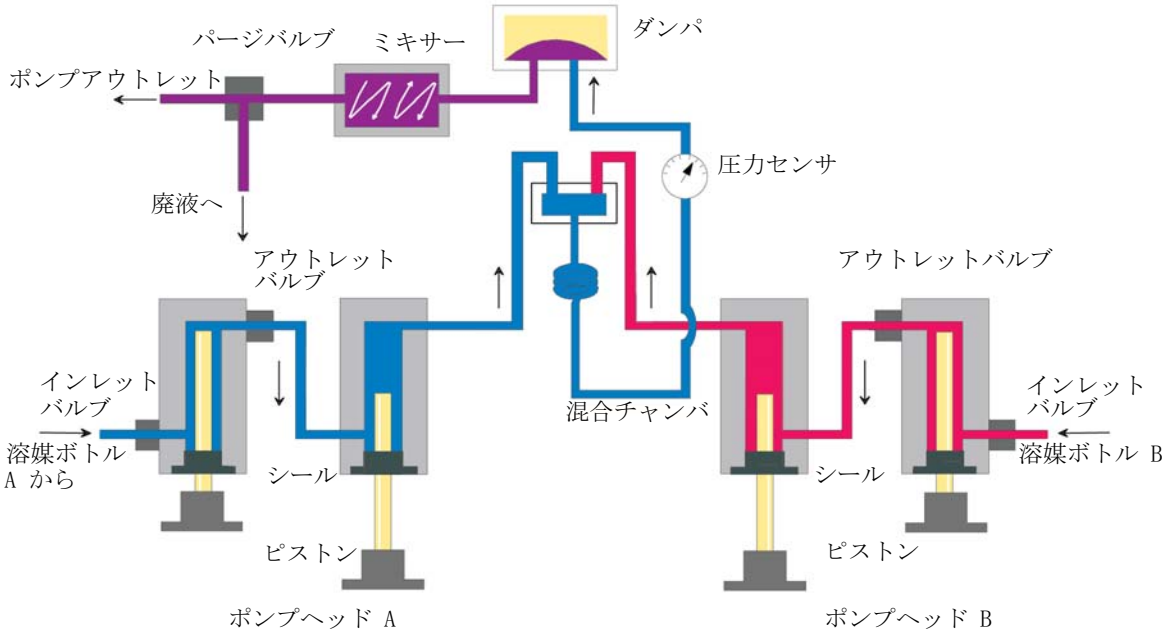


図 1　　ダンパーとミキサーを使用するバイナリポンプの流路

バイナリポンプのディレイボリュームを最小にするために、ダンパとミキサーをバイパスできます。このコンフィグレーションは、低流量でグラジエントが急勾配なアプリケーションに推奨されます。

『13 ページ 図 2』は、低ディレイボリュームモードでの流路の説明です。2つのコンフィグレーション間の変更方法の説明は、『G1312B バイナリポンプユーザーマニュアル』を参照してください。

注記

ダンパをライン中に接続したままミキサーをバイパスするコンフィクレーションは、バイナリポンプの望ましくない動作を招くおそれがあり、サポートされていません。

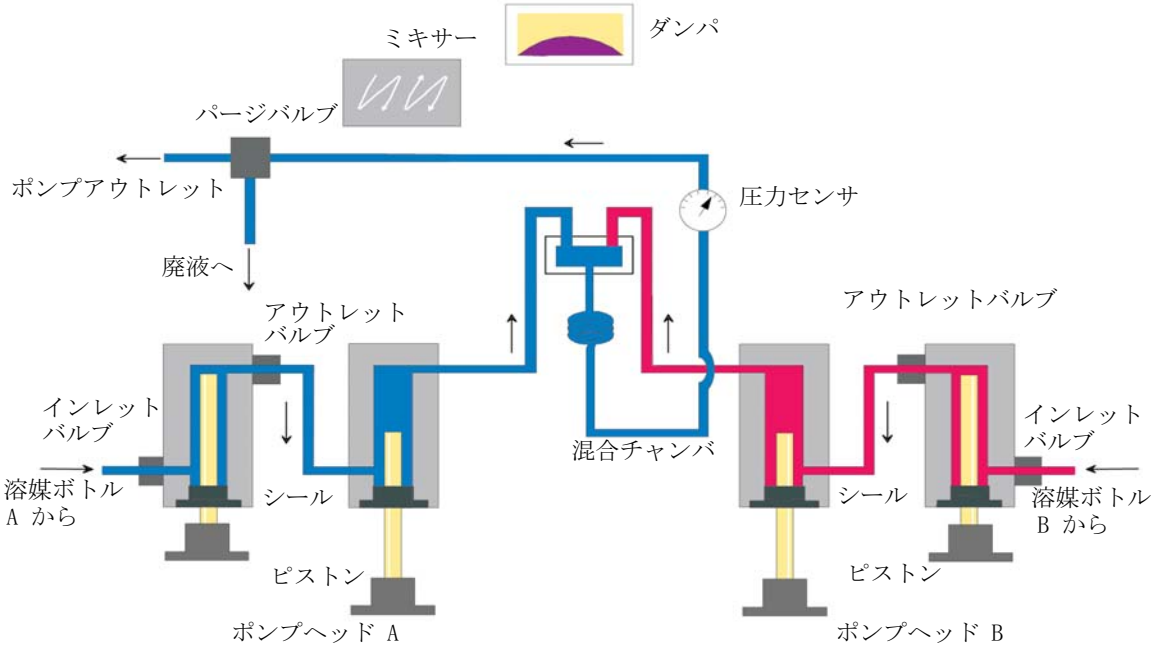


図 2 バイパスされたダンパーとミキサーを使用するバイナリポンプの流路

1260 Infinity ハイパフォーマンスデガッサ（G4225A）

Agilent 1260 Infinity ハイパフォーマンスデガッサ、G4225A モデルは、半透性チューブ、真空ポンプ、およびコントロールアセンブリの付いた 4 個の分離真空チャンバで構成されています。デガッサのスイッチを入れると、コントロールアセンブリが起動し、真空チャンバ内に低圧が生じます。圧力は圧力センサで測定されます。デガッサは、空気インレットフィルタ中の被制御リークと、圧力センサを使用した真空ポンプ調節により低圧状態を維持します。

LC ポンプが、真空チャンバの半透性チューブを通して容器から溶媒を吸引します。溶媒が真空チャンバを通過する際に、溶存ガスはすべてチューブを通じて真空チャンバ内に浸透します。溶媒は、脱気されてデガッサのアウトレットから流出します。

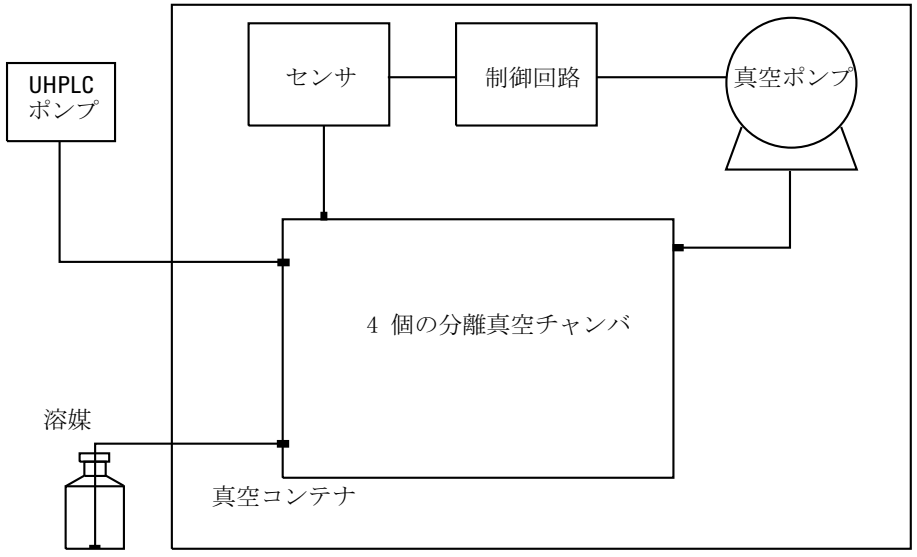


図 3　概要（4 つの溶媒チャンネルの 1 つだけが示されています）

1260 Infinity ハイパフォーマンスサンプラ (G1367E)

機能

1260 Infinity ハイパフォーマンスサンプラは、圧力範囲の向上により (最大 600 bar)、Agilent 1260 Infinity Binary LC の最新のカラム技術 (サブ 2 マイクロンのナロー ボアカラム) を使用できます。最適化された新しい部品、フロースルーデザインによる高速化とキャリーオーバーの最小化、サンプル注入速度の向上による高いサンプル処理性能、オーバラップインジェクションモードの使用による生産性の向上、さまざまなタイプのサンプル容器 (バイアル、ウェルプレートなど) を使用した柔軟で利便性の高いサンプル処理により、堅牢性が向上しています。384 のウェルプレートを使用することで、最大 768 の無人サンプル処理を実行できます。

オートサンプラの原理

サンプリング動作中のオートサンプラコンポーネントの動作は、オートサンプラプロセッサによって常時モニタリングされています。このプロセッサによって、各動作のタイムウィンドウと物理的な移動範囲が定義されています。サンプリング動作の特定ステップを正常に終了できないと、エラーメッセージが生成されます。サンプリング動作中、注入バルブによって溶媒はオートサンプラからバイパスされます。ニードルは目的のサンプル位置に移動してサンプル内の液体の中に下がると、計量デバイスのプランジャが一定距離を後退して任意の容量が吸引されます。その後、ニードルが再度上昇し、シート上に移動します。サンプリング動作の終了時点で注入バルブがメインパスポジションに戻ると、サンプルがカラムに注入されます。

標準のサンプリング動作は、以下の順序で実行されます。

1 注入バルブがバイパスポジションに切り替えられます。

2 計量デバイスのプランジャが初期化ポジションに移動します。

3 ニードルロックが上昇します。

4 ニードルが任意のサンプルバイアル (またはウェルプレート) の位置に移動します。

5 ニードルが任意のサンプルバイアル (またはウェルプレート) の中に下がります。

6 計量デバイスが設定されたサンプル量を吸引します。

7 ニードルがサンプルバイアル（またはウェルプレート）から上昇します。

8 その後、ニードルがシート上に移動します。

9 ニードルロックが下降します。

10 注入バルブがメインパスポジションに切り替わり、注入サイクルが終了します。

ニードルは必要に応じてステップ 7 と 8 の間で洗浄されます。

注入動作

注入動作の開始前、および分析中は、注入バルブはメインパスポジションです。注入バルブがこのポジションにあると、移動相はオートサンプラの計量デバイス、サンプルループ、およびニードル内を送液されます。これにより、サンプルに触れた部分がすべて分析中にフラッシュされ、キャリーオーバーを最小限に抑えます。

サンプリング動作開始時に、バルブユニットはバイパスポジションに切り替わります。ポンプから送られた移動相は、ポート 1 のバルブユニットに入り、ポート 6 を通ってカラムに直接流れます。

サンプリング動作の最後のステップは注入と分析のステップです。6 ポートバルブがメインパスポジションに切り替わり、サンプルループを通る流路に戻ります。溶媒フローはサンプルはループ内を通ってサンプルをカラムに運び、分離が始まります。これは、分析の構成要素であるランの初期段階です。この段階では、性能に影響するすべての主要ハードウェアの内部が溶媒フローでフラッシュされます。標準のアプリケーションでは、フラッシュ手順の追加は必要ありません。

ニードルのフラッシング

キャリーオーバーを抑えて非常に高感度の分析を行うために、注入前にサンプリングユニットのインジェクタポートの後ろにあるフラッシュポートでニードルの外部を洗浄できます。ニードルがフラッシュポートに移動すると、すぐにペリスタルチックポンプが定義された時間だけ溶媒を送液してニードルの外部を洗浄します。この処理が終了すると、ニードルは注入ポートに戻ります。

1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)

Agilent 1290 Infinity カラム コンパートメント (TCC) は、周囲温度 -10 ° C から 100 ° C (2.5 ml/min の場合) または 80 ° C (5 ml/min の場合) までの範囲で温度を制御できます。温度安定性の仕様は ± 0.05 ° C であり、精度仕様は ± 0.5 ° C (キャリブレーション時) です。[1]. この条件は、サーモスタットベインの接触部の伝導、カラム環境内の静止空気温度、そして最も重要ですが、移動相を、カラムに挿入する前に熱交換器内をくぐらせることによって、前もって加熱 (または冷却) しておくことを組み合わせれば達成できます。各 TCC 内には、300 mm までの長いカラム用の温度帯と、100 mm 以下の短いカラム用の温度帯の 2 つの独立した温度帯があります。

このモジュールには、1.6 µl の低拡散熱交換器が付属しています。各バルブキットは、各カラム用の追加低拡散熱交換器を持っています。低拡散熱交換器は、TCC 内に最大 4 台まで自由に取り付けることができます。従来の HPLC 操作を行う場合は、3 µl と 6 µl の内蔵熱交換器を使うこともできます。

各 TCC には、1 つの内部バルブドライブを収容できます。バルブ切り替えアプリケーションはこのドライブを使用して、2 つのカラムを単純に切り替える自動的なカラム再生、サンプルの準備、カラムバック フラッシングなどを実行します。各バルブヘッドは、必要なすべてのキャピラリ、追加の低拡散熱交換器、その他の部品を含む完全なキットとして提供されます。

切り替えバルブは、バルブに接続すれば、非常に使いやすく、柔軟性がある操作性を提供します。押し込めば、Quick Change バルブのドライブユニットが前方向にスライドし、簡単にアクセスできるようになります (『18 ページ 図 4』の左図を参照)。異なるアプリケーションの場合は、ユーザーがドライブメカニズムの代替バルブヘッドを交換できます (『18 ページ 図 4』の右図を参照)。バルブヘッドの上部にある RFID タグに注意してください。

[1] いずれの仕様も、周囲温度 25 ℃、設定温度 40 ℃、流量範囲 0.2 ～ 5 mL/ 分の蒸留水に対して有効です。

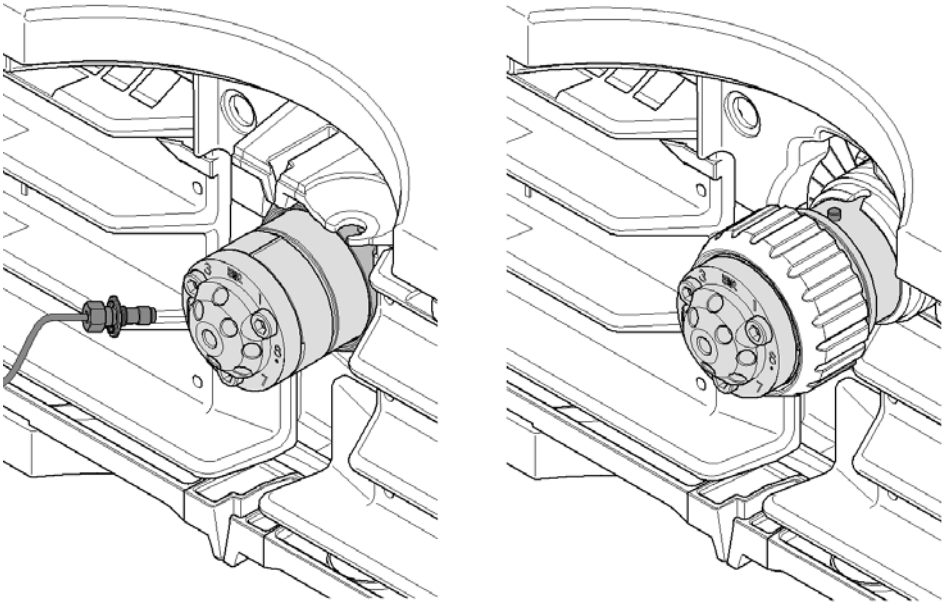


図 4　　TCC 内のクイックチェインジバルブ

TCC は最大 3 台まで「クラスタ化」できます。この構成では、自動メソッド開発用に 8 つのカラムを切り換えるような高度なアプリケーションに対応したり、異なるアプリケーションに追加カラムを提供することができます。したがって、使用するカラムは、単純なメソッド パラメータになります。これには 2 つの 8 ポジション /9 ポートバルブヘッドが必要ですが、これは 2 つの TCC につき、1 つしか付属していません。クラスタ構成の TCC は、操作が楽になるように、ソフトウェアによって、1 つのインタフェースしか持たない 1 つのユニットとして表現されます。

以前の設計に比べて改善された点は、断熱効果が向上したこと、キャピラリガイドが改善されたこと、そして「ドアオープン」センサーが追加されたことです。このセンサーによって、メソッドでドアが閉じられた状態を定義できるようになりましたが、これは特に低温度 / 高温度アプリケーションで役に立ちます。

1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212B)

1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (DAD) は、光流体導波管テクノロジを採用したカートリッジセルを用いた新しい光学設計です。このテクノロジは、標準または超高速 LC アプリケーションに対して、高感度、低拡散、広い線形範囲、そして非常に安定したベースラインなどの属性を提供します。Agilent Max-Light カートリッジセルでは、コーティングされていないフューズドシリカキャピラリに沿った全反射を利用することによって、光の透過率が著しく改善されました。つまり、セルボリュームの拡散効果を通じて、分離性能を犠牲にすることなく、従来よりもはるかに優れた感度を達成しています。この設計により、屈折率や熱効果が原因となるベースライン変動を最小化できるため、ピーク面積の積分の信頼性が向上します。

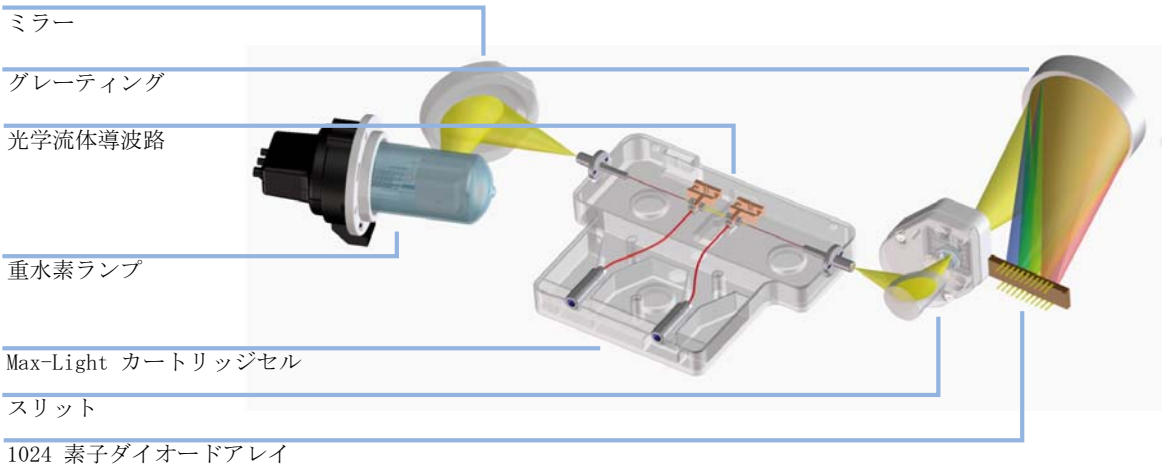


図 5　　DAD を通過する光路

このモジュールには、周囲温度の影響への耐性を強化するための、電子温度コントロールも採用されています。Max-Light カートリッジセルの水力ボリュームは非常に小さいものの、光路長は標準の 10 mm です。ただし、さらに高感度が必要な場合には、光路長が 60 mm の別の Agilent Max-Light 高感度セルも用意されています。セルは、セルホルダーの前後にスライドさせることで簡単に交換でき、光学作業台内で自動調整されます。DAD の光源は、重水素ランプです。動作波長範囲は、190 ～ 640 nm をカバーしています。これは、1024 ダイオードで構成されるダイオードア

レイで検出されます。分光器への入力は、4 nm の固定式光学スリットを経由して行われます。

クロマトグラフ シグナルは、モジュール内のファームウェアによって、ダイオードアレイのデータから抽出されます。シグナルは 8 個まで個別に定義できます。各シグナルは、シグナル波長、ダイオードバンチングバンド幅、そして、必要に応じてリファレンス波長とバンド幅で定義します。シグナルの出力で、最高速（最狭）クロマトグラフ ピークを正確に記録できるのは、80 Hz（80 データ数 / 秒）の場合です。また、このモジュールは、同じレートの 80 Hz で全範囲のスペクトルをデータシステムに出力できます。

規制対象下のラボでは、すべてのメソッドパラメータを記録しておく必要があります。1260 Infinity DAD は、機器の設定値だけでなく、ランプやフロー セルカートリッジ内の RFID タグ（無線周波数 ID タグ）も記録します。そのため、システムには、これらの重要なコンポーネントの ID や変数も記録されます。

1200 Infinity シリーズ Quick Change バルブ

Agilent 1200 Infinity Quick Change バルブは、種々の高度なバルブアプリケーションをサポートしています。各バルブヘッドは、必要なすべてのキャピラリ、追加の低拡散熱交換器、その他の部品を含む完全なキットとして提供されます。

Quick Change バルブの代表的なアプリケーションの一部を以下に示します。

- デュアルカラム切り替え
- サンプルの濃縮
- サンプル クリーンアップ
- カラム再生を交互に行う
- メソッド開発や 2D-LC などの特別なアプリケーション

これらのアプリケーションの詳細な説明は、『バルブソリューションユーザーガイド』を参照してください。

仕様

1260 Infinity Binary LC のモジュール方式の設計は、個々のアプリケーション要件に正確に適合したシステムコンフィグレーションを可能にします。この個別のコンフィグレーションは、『システムユーザーガイド』に記載されている標準コンフィグレーションとは異なるものにすることができます。

1260 Infinity バイナリポンプの物理的仕様と性能仕様を以下に示します。ご利用のシステムのその他のモジュールの仕様に関する詳細は、該当するモジュールのユーザー マニュアルを参照してください。

1260 Infinity バイナリポンプ（G1312B）の物理的仕様

表 1　物理的仕様

タイプ	仕様	コメント
質量	15.5 kg (34 lbs)	
寸法（高さ × 幅 × 奥行き）	180 x 345 x 435 mm (7 x 13.5 x 17 ｲﾝﾁ)	
入力電圧	100 - 240 VAC, ± 10 %	広範囲の電圧に対応
電源周波数	50 または 60 Hz ± 5 %	
消費電力	220 VA, 74 W / 253 BTU	最大値
使用周囲温度	4 - 55 ° C (39 - 131 ° F)	
保管周囲温度	-40 - 70 ° C (-40 - 158 ° F)	
湿度	< 95 % r.h.、40 ° C (104 ° F)	結露なし
使用高度	最大 2000 m (6562 ft)	
保管高度	最大 4600 m (15091 ft)	モジュールを保管できる高度
安全規格： IEC、CSA、UL	設置クラス Ⅱ、汚染度 2	室内使用専用。

性能仕様

表 2　Agilent 1260 Infinity バイナリポンプ（GG1312B）の性能仕様

タイプ	仕様	コメント
ハイドロリックシステム	デュアルピストン直列型ポンプ（サーボ制御方式可変ストロークドライブ、ギアとボールスクリューによる動力伝達、フローティングピストン搭載）2 個	
設定可能な流量範囲	設定値 0.001 - 5 mL/min、0.001 mL/min ステップ	
流量範囲	0.05 - 5.0 mL/min	
流量精度	≤0.07 % RSD または ≤0.02 min SD のいずれか大きい方	一定の室温でのリテンションタイムに基づく
流量真度	± 1 % または 10 µL/min のいずれか大きい方	脱気した H_2O を 10 MPa（100 bar）で送液時
圧力動作範囲	動作範囲 0 - 60 MPa（0 - 600 bar、0 - 8700 psi）最大流量 5 mL/min	
圧力の脈動	< 2 % 振幅（通常 < 1.3 %）、または < 0.3 MPa（3 bar）のどちらか大きい方、1 mL/min イソプロパノール、すべての圧力 >1 MPa（10 bar、147 psi） **低ディレイボリュームコンフィグレーション：** < 5 % 振幅（通常 < 2 %）	
圧縮率補正	移動相の圧縮率に基づいて定義済み	
推奨 pH 範囲	1.0 - 12.5 、pH < 2.3　の溶媒はステンレス鋼を傷める酸を含まないこと	

表 2 Agilent 1260 Infinity バイナリポンプ（GG1312B）の性能仕様

タイプ	仕様	コメント
グラジエント組成	高圧バイナリ混合	
ディレイボリューム	**標準ディレイボリュームコンフィグレーション**： 600 - 800 µL、(400 µL ミキサーを含む)、背圧により異なる **低ディレイボリュームコンフィグレーション**： 120 µL	水 1 mL/min を送液し測定（水 / カフェイントレーサー）
組成範囲	設定可能範囲： 0 - 100 % 推奨範囲 :1 チャンネルにつき 1 - 99 % または 5 µL/min のいずれか大きい方	
組成精度	< 0.15 % RSD または < 0.04 min SD のいずれか大きい方	0.2 および 1 mL/min において、一定の室温でのリテンションタイムで測定
組成真度	± 0.35 % 絶対値、流量 2 mL/min、圧力 10 MPa (100 bar) で測定	(水 / カフェイントレーサー)
コントロール	Agilent コントロールソフトウェア (Chemstation、EZChrom、OL、MassHunter など)	
ローカルコントロール	Agilent インスタントパイロット	リビジョン B0.020.00 以降
アナログ出力	圧力モニタリング用、1.33 mV/bar、1 出力	
通信	コントローラエリアネットワーク (CAN)、RS-232C、APG リモート： レディ、スタート、ストップ、シャットダウンの各シグナル、LAN（オプション）	

表 2 Agilent 1260 Infinity バイナリポンプ（GG1312B）の性能仕様

タイプ	仕様	コメント
安全とメンテナンス	インスタントパイロット、Agilent Lab Advisor、およびクロマトグラフィ データ システムが提供する広範囲のトラブルシューティングとメンテナンスをサポート。リーク検出、安全なリーク処理、ポンプ システムのシャットダウン用リーク出力シグナル、主要なメンテナンス領域における低電圧などの安全関連機能を搭載。	
GLP 機能	EMF（Early maintenance feedback）機能： 事前設定やユーザー設定可能なリミットでシールウェアやポンプの移動層のボリュームを継続的に追跡し、メッセージをフィードバック。メンテナンスとエラーの電子的記録	
ハウジング	全材料リサイクル可能（自治体による）	

注記

この装置を 500 µL/min 以下の流量で、またはダンパーとミキサーなしで使用する場合は、デガッサが必要です。

仕様の測定はすべて脱気した溶媒を使って実施します。

2
概要

液体クロマトグラフィで、より小さな粒子を使用することの理論的根拠 28
小粒径カラムの利点 34
摩擦熱 37

本章では、Agilent 1260 Infinity Binary LC とその基盤となっている概念について紹介します。

液体クロマトグラフィで、より小さな粒子を使用することの理論的根拠

概要

Agilent は、2003 年に、1.8 µm の粒子を使用する総合多孔質シリカカラムを初めて商品化しました。

サブ 2 マイクロン（1.8 µm）の粒子径を持つカラムは、Agilent 1260 Infinity Binary LC と組み合わせることにより、主として次の 2 つの目的で使用されます。

1 クロマトグラフィの時間短縮

   サブ 2 マイクロンの粒子サイズを持つ短いカラムは、分解能を損なうことなく流量を増加させることができるため、分析に必要な時間を著しく短縮します。

2 より優れた分解能

   サブ 2 マイクロンの粒子サイズを持つ長いカラムは効率が向上するため、複雑なサンプルの分離に必要なより優れた分解能を獲得できます。

STM（サブ 2 マイクロン）粒子を持つカラムによって溶媒を促進するために必要な圧力は、分離時間を短縮するために流量を増加させると急激に上昇し、分解能を向上させるためにカラムを長くすると非常に急激に上昇します。STM カラムが認知されたことによって、UHPLC システムを開発することが自然な流れとなりました。UHPLC システムは、HPLC の初期の頃から続いてきた 400 bar の標準よりも高い圧力を提供できる HPLC システムです。

Agilent は今日、1200 bar の最大圧力の UHPLC の要件に対応した 1290 Infinity LC を提供しています。

理論

HPLC の分離効率は、van Deemter 方程式で表現できます（『29 ページ 図 6』）。これは、対象化合物をカラムに沿って下げていく際に、拡散を測定するために使われてきた段高さモデルの拡張です。H は理論段相当の高さ（HETP と表現されることもあります）、d_p はカラム充填剤の粒子径、u_0 は移動相のリニア速度、そして A、B、C は各種の拡散力に関連付けられる定数です。A 項は、渦拡散またはカラムを通過する複数の流路に関連付けられます。B 項は、カラム軸（縦方向）に沿った分子拡散に関連付けられます。C 項は、移動相と固定相間の対象化合物の物質移動に関連付けられます。分離効率が最大になるのは、H が最小値のときです。各項とそれが結合された方程式の効果を『29 ページ 図 6』に示します。この図は、プレート高さをカラム内の線型流量に沿ってプロットしたものです。この種のプロットは van Deemter 曲線として知られており、カラムの分離効率を最大化するための最適流量（曲線内の最小点）を決定するために使われます。

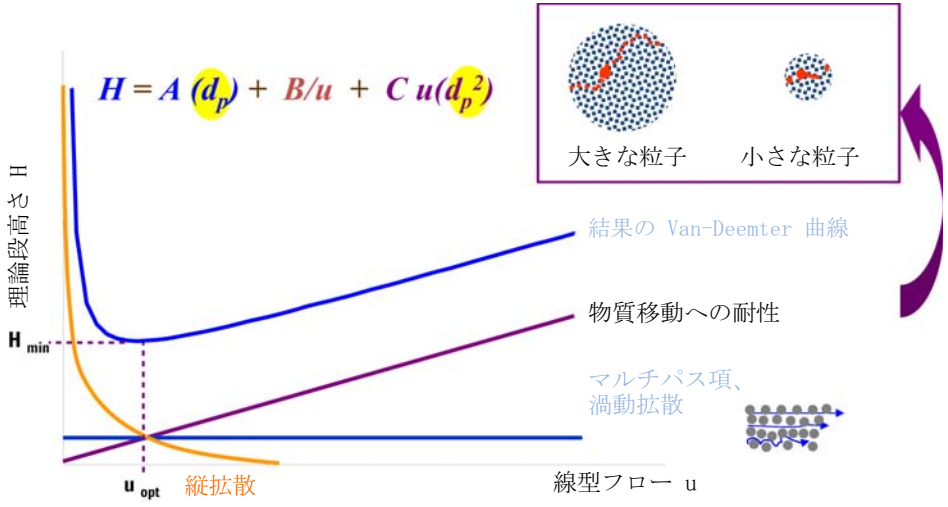


図 6 仮想的な van Deemter 曲線

『30 ページ 図 7』の van Deemter プロットでは、粒子径を小さくすることが効率を上げる結果となることが示されています。通常使われる 3.5 µm と 5.0 µm の粒子径を 1.8 µm の粒子サイズに変更すると、性能は著しく向上します。1.8 µm の粒子では、プレート高さが 1/2 ～ 1/3 ほど低くなり、それに比例して効率が向上します。それに従って、分解能を損なうことなくカラムを短くすることが可能になり、それに応じて実行時間も 1/2 ～ 1/3 ほど短縮されます。効率が向上するのは、粒子径を小さくした（つまり、A 項（渦拡散）を小さくした）ために、複数の流路が短縮されたことが大きな理由です。また、粒子径を小さくすれば、物質移動の時間も短縮できるため、C 項も小さくなります。そして、流量が増加した（線の傾斜が緩やかになった）ため、全体の効果としては、効率損失が大幅に減少したことが観察できます。つまり、流量を増加させればさせるほど、効率の低下を招くことなく、小さな粒子の分離を加速できることがわかります。

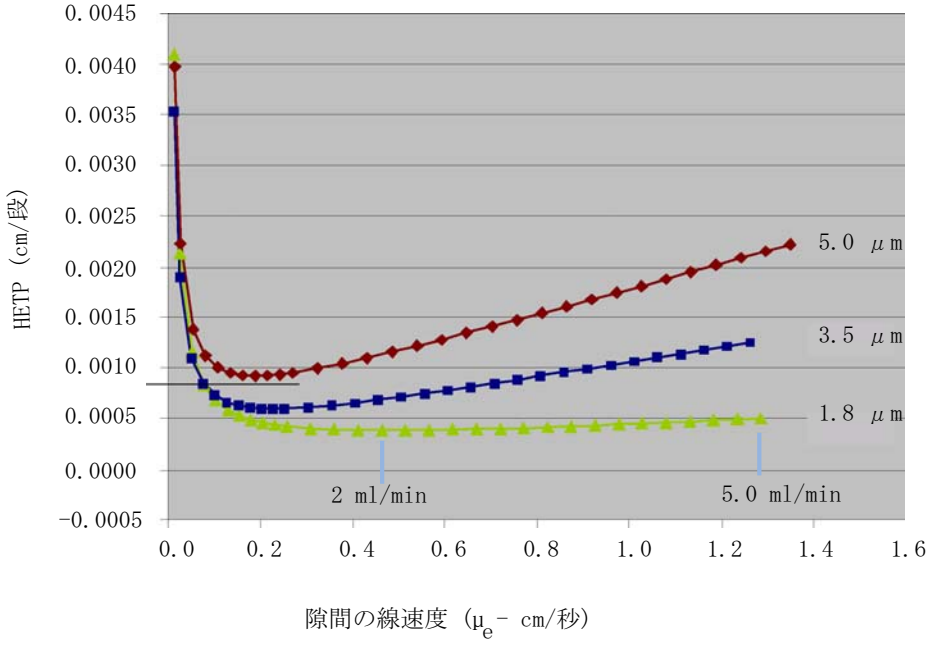


図 7　　各種の粒子径に対する van Deemter 曲線

クロマトグラフィの分離性能は、粒子径、孔径、粒子形態、カラムの長さと内径、溶媒速度、温度のような、HPLC カラムの物理特性に基づいて最適化できます。また、分離熱力学に配慮し、溶質と固定相 / 移動相の特性（有機溶媒の割合、イオン強度、および pH）を操作することによって、最小の保留時間と最大の選択性を達成できます。

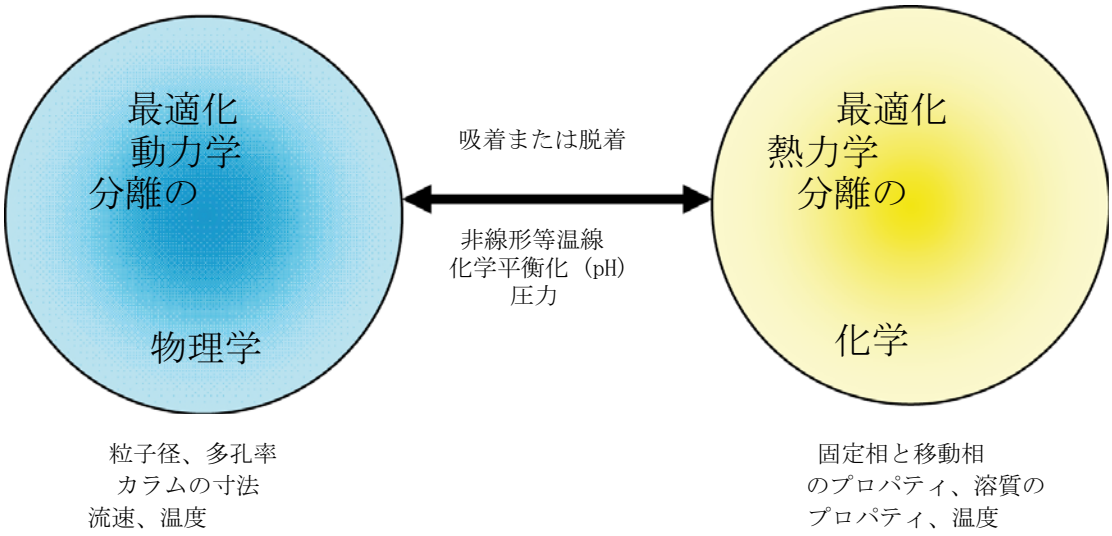


図 8　HPLC の最適条件の選択

分解能は、次の 3 つのパラメータを持つ関数で表現できます。

- カラム効率または理論段数（N）
- 選択性（a）
- 保持係数（k）

分解能方程式（『32 ページ 図 9』）によれば、選択性が分解能に最も影響を与えることがわかります（『32 ページ 図 10』）。つまり、適切な固定相 / 移動相の特性と温度を選択することが、分離を成功させるために最も重要であるということです。

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \left[\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right] \cdot \left[\frac{k_2'}{k_2' + 1}\right]$$

図 9　　分離能方程式

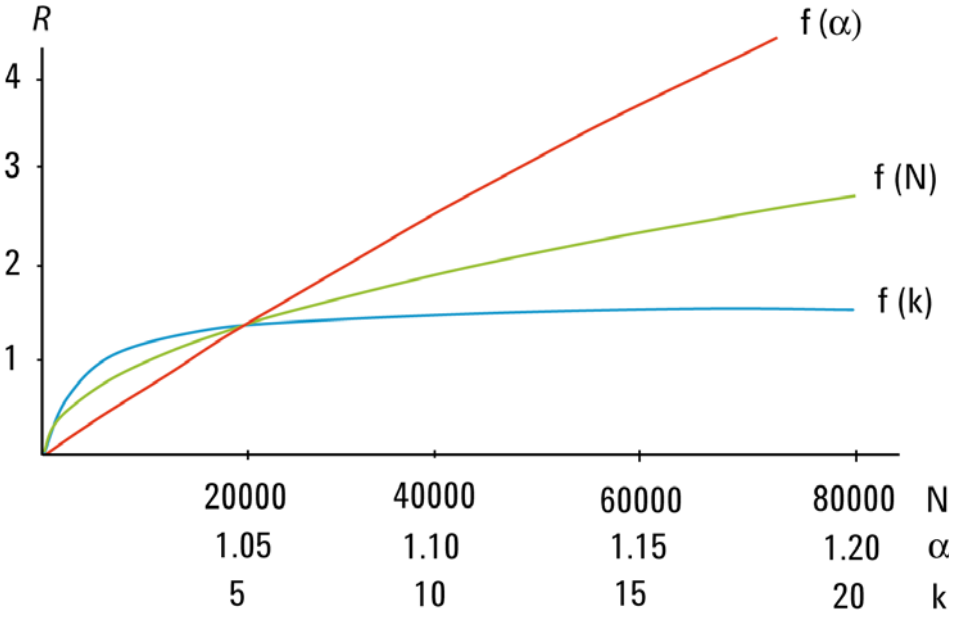


図 10　　R に対する段数、分離係数、保留係数の効果

UHPLC 分離メソッドには、新規に開発したものか、既存の汎用メソッドを単純に流用したものかにかかわらず、各種のカラム形式で利用可能な固定相の化学的性質の選択が広範囲になるという明らかなメリットがあります。

Agilent は、140 種類を超える ZORBAX 1.8 µm 高速分離ハイスループット（RRHT）カラム（14 の選択肢、15 ～ 150 mm の長さ、2.1 、3.0 、4.6 mm の内径）を提供しています。

ZORBAX カラムに加えて、9 種類の選択肢を有する Poroshell カラムを Agilent 1260 Infinity Binary LC に利用できます。

これによって、選択性を最大化するために、最適の固定相が選択できるようになりました。分解能、流量、実行時間は、カラムの適切な長さと内径を選択することで最適化できるため、長い STM カラムが従来よりも操作しやすくなりました。

Poroshell カラムは、いわゆる表面多孔性粒子（SPP）カラムです。総合多孔質シリカカラムとは異なり、これらの SPP カラムは固体コア（1.7 µm の直径）と多孔性シリカ層（0.5 µm の厚み）を有します。Poroshell カラムの速度と分解能は、最大で 50 % 低い背圧を有するサブ 2 マイクロンカラムと同等です。Poroshell カラムは近年、古い「ペリキュラー」粒子カラムよりも小さい粒径において復活を果たしつつあります。このテクノロジーは、標準的な小分子の反転相分離で使用するためにサブ 3 マイクロンサイズなどのさらに小さい粒径に再導入されたことにより、現在注目を集めています。

多くのラボでは、分離用の固定相、移動相、温度の最適の組み合わせを選択するために、広範囲に及ぶスクリーニングプロセスを実施しています。Agilent 1200 Infinity シリーズマルチメソッド開発ソリューションを使用すると、時間がかかる選択プロセスを完全に自動化できます。そのため、メソッド開発とメソッド移管が簡単で信頼性のある作業になります。

ZORBAX 1.8 µm RRHT カラムは、3.5 および 5 µm の粒子を使用する ZORBAX カラムと同じ化学的性質を使用します。その結果、任意の ZORBAX 相に対し、5.0 、3.5 、1.8 µm の粒子によって同等の選択性が提供されるため、従来の LC と UHPLC の間の簡単、高速かつ安全な双方向のメソッド移管が実現できます。

小粒径カラムの利点

クロマトグラフィの時間短縮

実行時間が短縮されることで、いくつかの利点がもたらされます。ハイスループットのラボでは、キャパシティが増加するため、少ない時間でより多くのサンプルを分析できるようになります。少ない時間でより多くのサンプルを分析できるため、コストが下がります。たとえば、1 つのサンプルの実行時間が 20 min から 5 min に短縮されれば、700 サンプルのコストは 79 % 低下します（『34 ページ 表 3』）。

表 3　700 分析の時間とコストの節減

サイクルタイム	20 分のサイクルタイム	5 分のサイクルタイム
分析	700	700
1 分析あたりの概算コスト[1]	$ 10.58	$ 2.24
700 分析あたりの概算コスト[1]	$ 7400	$ 1570
コスト節減	–	$ 5830
時間[2]	10 日	2.5 日

[1] 溶媒 = $ 27/l 分析、廃棄処分 = $ 2/l 分析、人件費 = $ 30/ 時間

[2] 24 時間 / 日

Agilent のコスト削減カルキュレータには、従来の HPLC を 1.8 µm の粒子径カラムを使用した UHPLC に切り換えることによるコスト削減を計算するための簡単な機能があります。このカルキュレータは、メソッド転送カルキュレータと同様に、Agilent Technologies のウェブ サイト www.chem.agilent.com から入手できます。結果はグラフ形式と表形式で表示されます。

実行時間が短縮されるということは、回答を得るまでの時間が短縮されるということでもあります。これは、プロセスコントロールと、短時間のリリーステストのために重要です。1 つの薬品の単一バッチをリリースする

ための、すべてのシステム適合性、キャリブレーション、サンプル分析の実施に従来は数時間かかっていましたが、これが 1 時間以内に完了するようになります。短時間で回答を得られるということは、化合物の確認と反応制御のためにオープンアクセス LC/MS システムを使用する合成化学者にとっても重要です。実行時間の短縮は、メソッド開発プロセスを著しく加速します。

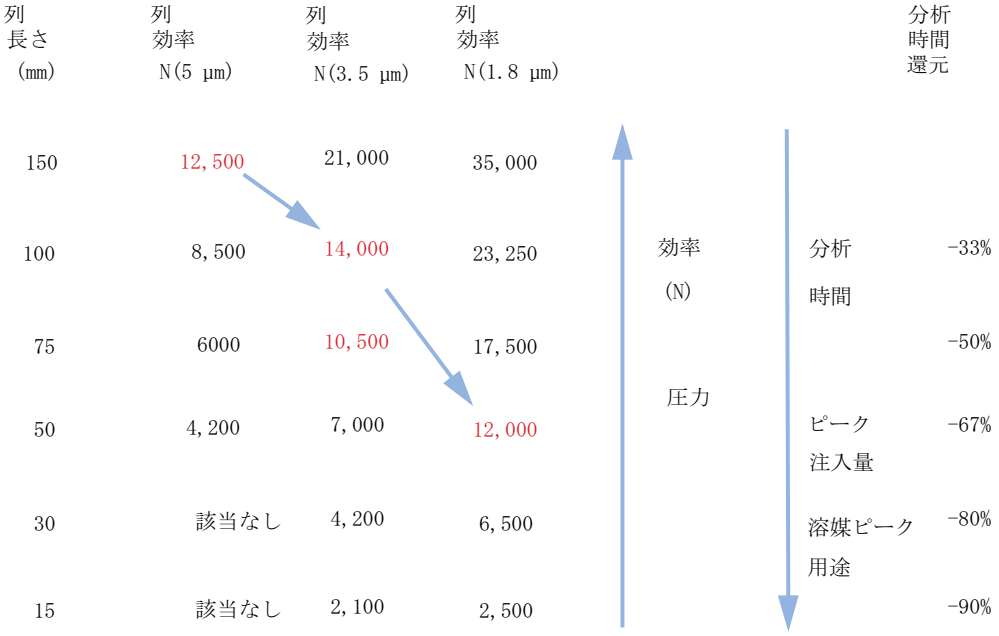


図 11　　粒子径、効率、分析時間の間の関係

実行時間の短縮は、粒径と圧力を最適化することによって、カラム効率を犠牲にすることなく行なえます。

より優れた分解能

長いカラムでは、充填される粒子が小さければ小さいほど、効率と分解能が向上します。このことは、代謝学やプロテオミクスの研究のための複雑なサンプルの分析で重要です。また、不純物プロファイリングのようなアプリケーションでは、高度な分離能力が役に立ちます。体液内の薬品の LC/MS 分析でも、イオン抑制からの干渉が減少するため、ピークキャパシティが増加するという利点が得られます。一般に、分離能力が高ければ高いほど、分析結果の信頼性が向上します。

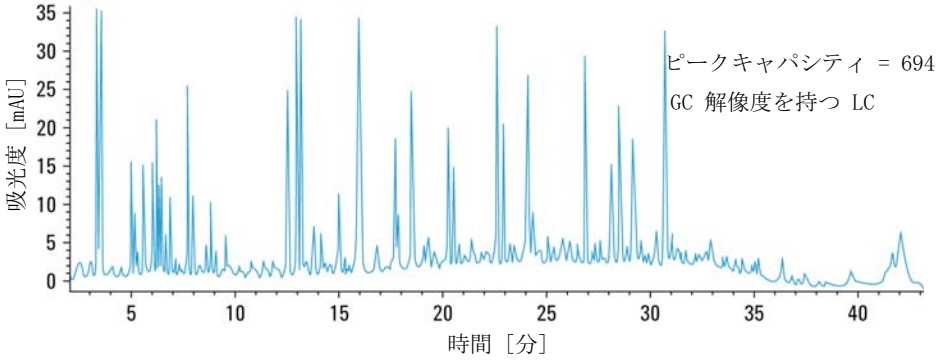


図 12　BSA のトリプシン消化物の分析に ZORBAX RRHT SB-C18 カラム (2.1 x 150 mm、1.8 µm) を使った場合は、700 超のピークキャパシティを達成可能

摩擦熱

カラム内の移動相の圧力と流量を増加させていくと、熱が発生します。その結果発生する温度勾配（放射状および縦方向）は、カラムの効率に影響を与えます。

$$Power = F * p$$

ここで、F は流量、p は圧力です。

強力なカラムの温度調節（たとえば、水槽の使用）は、強い放射状の温度勾配を生成し、それがカラム効率の著しい損失を引き起こします。槽内空気を強制循環しない温調は放射状温度勾配を平滑化するため効率の損失は少なくなりますが、カラム出口から生ずる高い温度には耐性を持つ必要があります。温度上昇は、選択性に影響するおそれがあります。背圧を低くすれば摩擦熱による性能損失を最小限に抑えられるため、内径が 4.6 または 3 mm のサブ 2 マイクロン カラムであっても、内径が 2.1 mm の各カラムよりも優れた効率が得られます。

要約すると、サブ 2 マイクロン充填剤の使用は、効率の改善、分解能の向上、分離時間の短縮という利点をもたらします。

Agilent 1260 Infinity Binary LC の特徴については、「製品説明」の章で説明します。「最適化」の章では、理論の適用方法と、これらの特徴を活かして最適分離を達成する方法について説明します。

3 Agilent 1260 Infinity Binary LC の最適化

最適ディレイボリュームの設定方法 40
ディレイボリュームとエクストラカラムボリューム 40
Agilent 1260 Infinity Binary LC のディレイボリューム 42
内径が 2.1 mm のカラムの最適な機器コンフィグレーション 43
内径が 3 および 4.6 mm のカラムの最適な機器コンフィグレーション 45
注入量を増加させる方法 47
サイクルタイムを短縮する方法 49
ハイスループットを達成する方法 51
キャリーオーバを最小にする方法 52
高分離度を達成する方法 54
高分解能のための最適な機器コンフィグレーション 57
感度を向上させる方法 61
高感度のための最適な機器コンフィグレーション 62
フロー セルの選択 64
カラムの詰まりを回避する方法 66

この章では、理論の適用方法と、LC システムの特徴を活かして最適分離を達成する方法について説明します。

最適ディレイボリュームの設定方法

ディレイボリュームとエクストラカラムボリューム

ディレイボリュームは、ポンプ内のミキシングポイントとカラム入り口間のシステムボリュームと定義されます。

カラム外ボリュームは、カラム内のボリュームを除外した、注入ポイントと検出ポイント間のボリュームと定義されます。

ディレイボリューム

グラジエント分離では、このボリュームによって、ポンプ内で変化している混合物間でディレイが生じるため、カラムへの到達が変化します。ディレイは、流量とシステムのディレイボリュームに依存します。これは、各 HPLC システム内では、各分析の開始時に、グラジエントプロファイル内にアイソクラティック送液が行われている時間が存在することを意味します。通常、グラジエントプロファイルは、ポンプでの混合物設定を使ってレポートされますが、ディレイボリュームは、クロマトグラフィに影響するにもかかわらず、レポートには示すことができません。この効果は、低流量と小さなカラムボリュームでは影響が大きくなり、グラジエントメソッドを別システムの転送する際に、大きく影響します。そのため、高速グラジエント分離の場合は、ディレイボリュームを小さくすることが重要です。特に、質量分析検出にしばしば使用されるナロー ボアカラム（つまり内径が 2.1 mm）の場合には注意を要します。

たとえば、5 µm の充填剤を使う HPLC メソッドでは、流量 1 ml/min が、通常、内径 4.6 mm のカラムで使われ、流量 0.2 ml/min が 2.1 mm のカラムで使われます（カラム内の線速度が同じ場合）。1000 µl の標準的なディレイボリュームと 2.1 mm カラムを使用するシステムでは、初期の「隠れた」アイソクラティック溶出の時間 5 min が存在する一方、600 µl ディレイボリュームを使用するシステムでは、ディレイは 3 min です。このようなディレイボリュームは、1 分または 2 分程度の実行時間に対しては大きすぎます。サブ 2 µm 充填剤を使用する場合は最適な流速（van Deemter 曲線による）が若干増加し、高速クロマトグラフィではこの流速の 3 ～ 5 倍の流速を使用できるため、ディレイ時間は 1 分ほどで済むようになります。ただし、ディレイ時間を、予定している実行時間の数分の 1 にするには、ディレイボリュームをさらに減らす必要があります。

Agilent 1260 Infinity Binary LC では、ポンプ流路を低ディレイボリュームにして、さらにオートサンプラを経由する流路を低ボリュームにすることよってこれを実現しています。

カラム外デッドボリューム

カラム外デッドボリュームは、分離分解能を低下させるピーク分散を引き起こすため、最小化する必要があります。カラムの内径を小さくするには、ピーク分散を最小限に抑えるために、内径に比例してカラム外デッドボリュームも小さくする必要があります。

液体クロマトグラフでは、カラム外デッドボリュームは、オートサンプラ、カラム、検出器間の接続チューブに依存します。検出器内では、フロー セルのボリュームに依存します。Agilent 1290 Infinity Binary LC では、チューブの内径を小さくしたこと (0.12 mm の内径)、カラムコンパートメント内の熱交換器と検出器内の Max-Light カートリッジセルのボリュームを小さくしたことによって、カラム外デッドボリュームを最小限に抑えています。

Agilent 1260 Infinity Binary LC のディレイボリューム

『42 ページ 表 4』と『42 ページ 表 5』に、Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システム内のシステムディレイボリュームの原因となるコンポーネントボリュームを示します。

表 4　1260 Infinity Binary LC モジュールのディレイボリューム

コンポーネント	ディレイボリューム (µl)
バイナリポンプ[1]	120
バイナリポンプ[2]	600 - 800
小容量ミキサー	200
ミキサー	400
オートサンプラ	270
低拡散熱交換器	1.6
内蔵熱交換器	3 ～ 6

[1] バイパスされたダンパとミキサーを使用した低ディレイボリュームコンフィグレーションの場合

[2] 標準ディレイボリュームコンフィグレーションの場合

表 5　1260 Infinity Binary LC コンフィグレーションのディレイボリューム

システムコンフィグレーション	ディレイボリューム (µl)
低ディレイボリュームコンフィグレーション	ポンプ：120 オートサンプラ：
中ディレイボリュームコンフィグレーション	ポンプ：320
標準ディレイボリュームコンフィグレーション	ポンプ：600 - 800

コンフィグレーションは、次の 2 つの方法で切り替えることができます。

- キャピラリの接続を外して再接続することにより、手動で行なう
- 600 bar 2PS/6PT バルブ（オプション）を使用して、自動で行なう

内径が 2.1 mm のカラムの最適な機器コンフィグレーション

超高速グラジエント分離で最短のグラジエントディレイを実現するための低ディレイボリュームコンフィグレーション

Agilent 1260 Infinity バイナリポンプの低ディレイボリュームコンフィグレーションでは、ポンプのディレイボリュームを約 120 µL に低減するためにダンパとミキサーがバイパスされます。このコンフィグレーションの流路接続を『43 ページ 図 13』に示します。これにより、超高速グラジエント分離で最短のグラジエントディレイが得られます。物理的なボリュームダンピングの代わりとなる電子的ダンピングコントロールをフルに活用するためには、ポンプメニューの補助設定画面で、該当する［**拡張溶媒圧縮率**］機能を選択することが重要です。

ピーク分散を最小化するには、低分散キット（ 低分散キット (G1316-68744)）を取り付ける必要があります。このキットには、内径が 0.12 mm の短いキャピラリと、カラム コンパートメント用の低拡散熱交換器（1.6 µL および 1.5 µL）が含まれています。UV 検出器の分解能を維持するには、低容量フロー セルを使用する必要があります。フロー セルの推奨事項については『「フロー セルの選択」64 ページ』を参照してください。

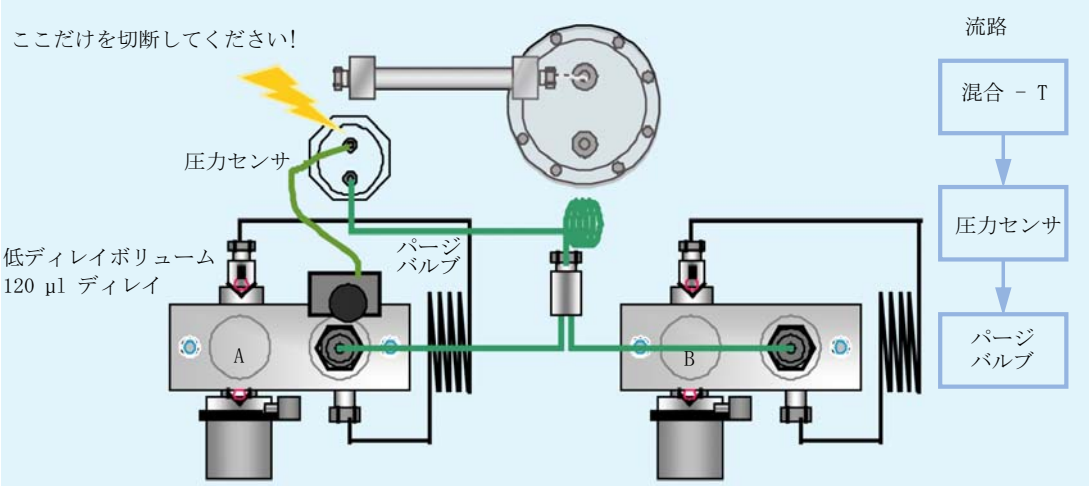


図 13 内径が 2.1 mm のカラムの低ディレイコンフィグレーション

ポンプ Aux 画面で正しいパラメータを設定する必要があることを忘れないでください。これにより、使用中の移動相に対して常に正しい圧縮率値を適用することが保証されます。大部分の一般的な溶媒について、キャリブレーション曲線が用意されています。

最高 UV 感度を得るための中ディレイボリュームコンフィグレーション

高感度の UV アプリケーションの場合には、追加の 200 µL ミキサー（小容量ミキサー（200 µL）（5067-1565））を取り付けて残差混合ノイズを低減することができます。極端なグラジエントの検査条件下でも、この小型のミキサーにより UV ベースライン ノイズが極めて低く抑えられます。『44 ページ 図 14』を参照してください。

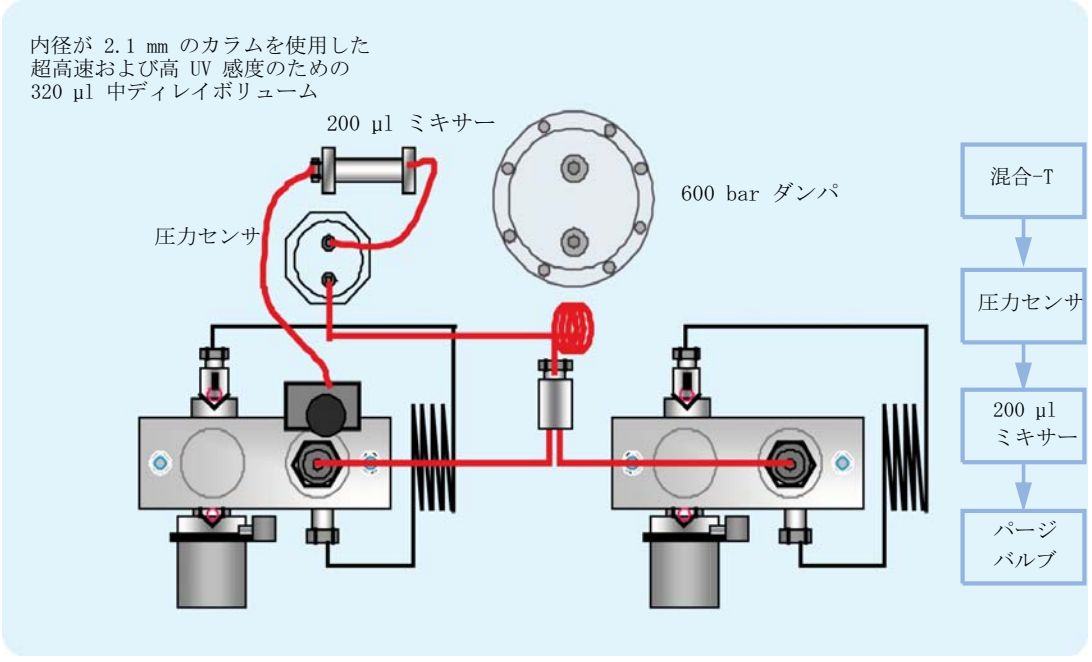


図 14 最高 UV 感度を有する内径が 2.1 mm のカラムの中ディレイボリュームコンフィグレーション

内径が 3 および 4.6 mm のカラムの最適な機器コンフィグレーション

最高 UV 感度と直接メソッド移管のための標準ディレイボリュームコンフィグレーション

内径が 3 mm および 4.6 mm のカラムの相対カラムボリュームは、同じ長さで内径が 2.1 mm のカラムよりもそれぞれ約 2 倍および 5 倍大きく、使用される流量も比例して高くなります。そのため、バイナリポンプの標準ディレイボリュームによってグラジエントディレイが著しく高くなることはありません。

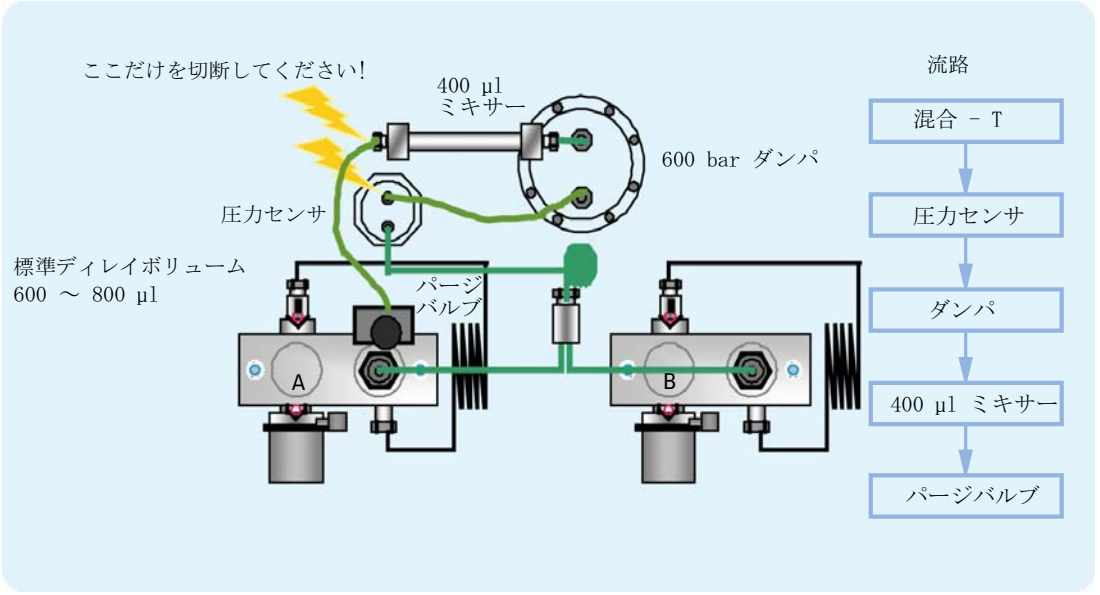


図 15 最高 UV 感度を有する内径が 3 および 4.6 mm のカラムの標準ディレイボリュームコンフィグレーション

標準ディレイボリュームコンフィグレーションでは、Agilent 1100 および 1200 シリーズ LC システムから 1260 Infinity Binary LC へ、またはその反対への直接メソッド移管も可能です。『46 ページ 図 16』に、パラセタモールと関連不純物を分析するメソッドの、重ね書きされた 2 種類のクロマトグラムを示します。メソッドは、クロマトグラフ条件（カラム、移動相、ポンプ設定、注入量、カラム温度、検出器設定）を変更せずに、Agilent 1200 シリーズ LC システムから Agilent 1260 Infinity Binary LC に移管されています。この図から、シームレスなメソッド移管が可能であることが分かります。

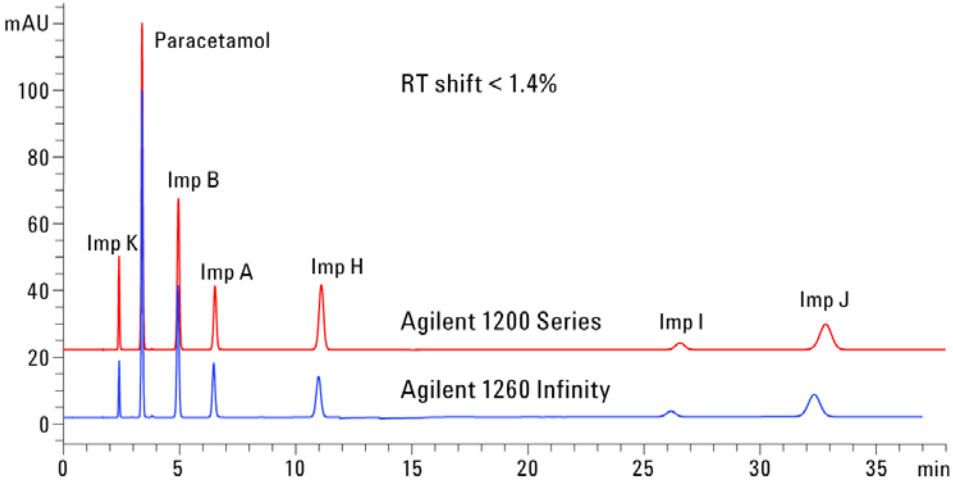


図 16　1 コンフィグレーションにおける Agilent 1200 シリーズと Agilent 1260 Infinity LC システムとの比較

注入量を増加させる方法

Agilent 1260 Infinity オートサンプラの標準コンフィグレーションでは、標準ループキャピラリを使用して最大 100 µL の注入が可能です。注入量を増加させるには、マルチ注入アップグレードキット (G1313-68711) を取り付けます。キットにより、インジェクタの注入量を最大で 400 µL または 1400 µL 増加させることができます。したがって、100 µL アナリティカルヘッド付きの 1260 Infinity オートサンプラのトータル容量は 500 µL または 1500 µL になります。マルチ注入キットの拡張シートキャピラリを使用すると、オートサンプラのディレイボリュームが増えることに注意してください。オートサンプラのディレイボリュームを計算する際は、拡張キャピラリの容量を倍にする必要があります。オートサンプラで発生するシステムディレイボリュームは、それに応じて増加します。

メソッドを大きなカラムから小さなカラムにスケールダウンする場合は、メソッドの性能を維持するために、メソッド変換でカラムのボリュームに比例した注入量に減らす必要があります。これによって、注入量とカラム容量の割合を同じに保つことができます。この操作は、注入する溶媒が開始移動相より強い（溶出力が大きい）場合は、特に重要です。多いと、必ず分離性能に影響があります（特に、保持係数の低い初期の分析ピークの分離性能）。これは場合によっては、ピークの変形の原因になります。普遍的な規則は、注入する溶媒を最初のグラジエント組成と同じかそれより弱くしておくことです。これは、注入量を増やせるのか、増やせるとしたら、どれくらい増やせるのかということに関係してきます。そして、注入量の増加を試みる場合は、拡散が増加している徴候（ピークの広がりまたは歪みや、ピーク解像度の減衰）がないかチェックする必要があります。弱い溶媒に溶解してサンプルを注入すると、グラジエント開始時にカラムのヘッドにある対象化合物を濃縮することが出来るため、注入量を増やすことができます。逆に、開始移動相よりも強い溶媒に注入すると、増加した注入量が対象化合物を、グラジエントよりも前にあるカラムに沿って分散させてしまうため、ピーク分散と分離度の低下を招きます。

したがって、注入量を決定する際に最も考慮しなくてはいけないことは、カラムの内径ということになります。これがピーク分散に最も影響があるためです。細いカラムでは、ピーク分散が減少するため、太いカラムで多くの注入を使った場合よりピークの高さが高くなります。内径が 2.1 mm のカラムでは、一般的な注入量の範囲は 5 ～ 10 µl ですが、これは、すでに説明したように、対象化合物の化学的性質と移動相に大きく依存して

います。最適の分離性能とピーク分散を保つには、カラムボリュームが約 5 % のグラジエント分離注入量が必要になります。

サイクルタイムを短縮する方法

サイクルタイムは、選択性に優れた短いカラムを選択することにより短縮できます。また、使用する検出システムによってカラム内径を決定します。UV 検出の場合には、最高のリニア速度が得られる 3.0 mm の内径のカラムが最適です。内径が 4.6 mm のカラムを使用すると、さらに高いリニア速度が得られますが、最大流量は 5 mL/min に制限されます。

ポンプは、内径が 4.6 mm および 3.0 mm のカラム用の標準ディレイボリュームコンフィグレーション（『43 ページ 図 13』を参照）で使用する必要があります。内径が 2.1 mm のカラムには、低ディレイボリュームコンフィグレーションを使用してください。また、内径が 2.1 mm のカラムを使用する場合には、低分散キットを取り付けてカラム外デッドボリュームを最小限に抑える必要があります。さらに、最高 UV 感度を得るために短いミキサー（ 小容量ミキサー（200 µL）（5067-1565））の使用が推奨されます。

クロマトグラフ条件は分析対象の化合物に大きく左右されますが、次の経験則によって各実行時間を短縮することができます。

- 流量は、必要な分解能、背圧、および使用する検出システムに応じて、できるだけ高くする必要があります。
- 急勾配なグラジエントを使用する必要があります。
- 高流量比の使用を可能にして実行時間をさらに短縮するために、高いカラム温度が推奨されます。低 pH の場合には、Zorbax SB カラムを最大 90 ° C で使用できます。

カラム再生を交互に行う

サイクルタイムは、カラム再生バルブとリジェネレーション ポンプを組み合わせて使用することによりさらに短縮できます。このセットアップを使用すると、以前に使用したカラムの再生が、2 番目のカラムを分析する際に行なわれます。これによりサイクルタイムは大幅に短縮されます。

カラムを 2 つ、ポンプを 2 つ、および 2 ポジション 10 ポートのバルブを 1 つ使用すると、これらのカラム間の切り替えが可能なため、注入から注入までのサイクルタイムを最短にすることができます。通常は、同じ化学的性質と同じバッチのカラムによって、同じキャリブレーションテーブ

ルを使用したデータ処理を可能にするリテンション タイム精度が得られます。

カラム再生を交互に行う場合の詳細な説明については、『バルブソリューションユーザーガイド』を参照してください。

自動ディレイボリューム削減（ADVR）

Agilent 1260 Infinity ハイパフォーマンスサンプラを使用すると、オーバーラップ注入（OI）または自動ディレイボリューム削減（ADVR）、あるいはその両方を行なうことができます。これは、サンプルがカラムの最上部に達した後で、注入バルブが流路外に切り替えられるということを意味します。これにより、ディレイボリュームが大幅に低減されます。『50 ページ 図 17』を参照してください。

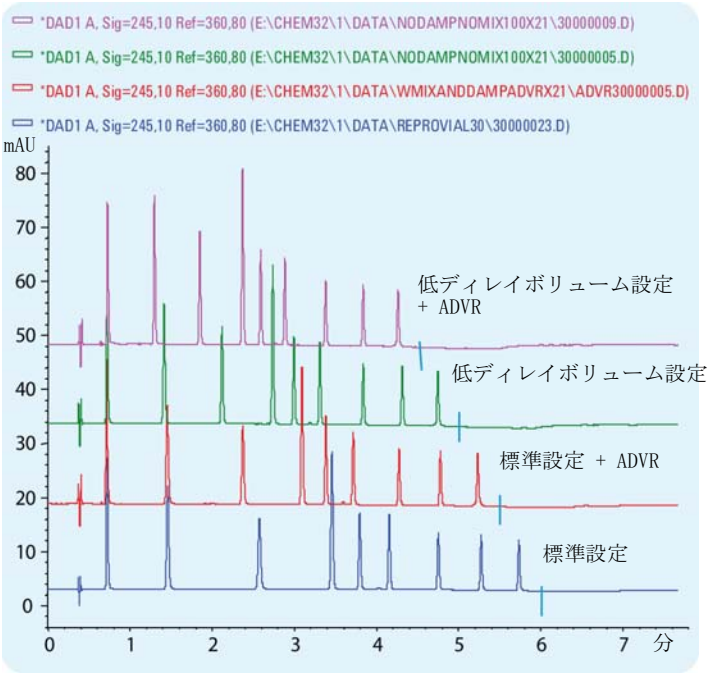


図 17　　ディレイボリュームの低減

流量が低いほど、ディレイボリュームから予測できる悪影響は大きくなります。『50 ページ 図 17』は、内径が 2.1 mm のカラムを 0.6 mL/min の流量で使用したものです。ディレイボリュームが、一番下のトレースから一

番上のトレースに向けて徐々に少なくなっています。総実行時間への影響と、特にピーク幅と最初のピークの高さへの影響が明らかに見られます。

オーバーラップ注入と自動ディレイボリューム削減の短所は、実行時間中にオートサンプラが流路に存在しない時間があることです。化合物の粘性が非常に高い場合には、これにより高いキャリーオーバまたは化合物ディスクリミネーションあるいはその両方を招くおそれがあります。

キャリーオーバは、サンプルと接触している機器の部分に残り、分析のためにカラム上にフラッシュされない化合物のパーセンテージです。このパーセンテージは定量測定にとっては損失であるとも言え、ディスクリミネートされます。キャリーオーバは、サンプル分析の完了後に純溶媒を注入することにより測定できます。ディスクリミネーションとキャリーオーバは、分析対象化合物が非極性であり、またグラジエントの開始時に高いパーセンテージの水が含まれている場合にはさらに重要になる可能性があります。最悪の場合は、非極性化合物が接触面で沈殿します。たとえば、サンプルプラグの前後にあるジメチルスルホキシドの小さいプラグが、この問題を最小限に抑えるのに役立つ可能性があります。

オーバーラップ注入または自動ディレイボリューム削除では、注入バルブがバイパスモードに切り替わるまでの時間を、20 までのフラッシュアウト係数を使用して延長する必要があります。これにより、オートサンプラのディレイボリュームが移動相とともにフラッシュされる時間が延長されます。

ハイスループットを達成する方法

注入の速度を最適化する場合は、サンプルの取り出しを速めると再現性を損なうことを考慮する必要があります。多くの場合、使用するサンプル量が範囲の下限となっている傾向があるため、限界ゲインが求められます。注入時間の大部分は、ニードルをバイアルとフラッシュポート間で移動させるのに必要な時間です。このような操作は、先行する分離を行っている最中に実行できます。これは「オーバラップ注入」として知られており、コントロールソフトウェアのオートサンプラ設定画面で簡単に有効にできます。オートサンプラには、注入が終わった時点で、バイパスするためにフローの切り替えを指示できます。たとえば 4 分間の分析では、3 分後に次のサンプルを吸引して注入を準備するプロセスを開始できます。これにより、一回の注入で通常は 0.5 ～ 1 分を短縮できます。

キャリーオーバを最小にする方法

後続するブランク溶媒注入に、直前に注入したサンプルの剰余ピークが観察される場合に、キャリーオーバーが計測されます。キャリーオーバは注入間で持ち越されるため、誤差のある結果の原因となります。キャリーオーバのレベルは、ブランク溶液中のピーク面積が、直前に注入されたサンプルの面積の何%であるかで計算します。Agilent 1260 Infinity オートサンプラは、流路の注意深い設計と、サンプル吸収が最小の材質の使用によって、最小のキャリーオーバが得られるよう最適化されています。トリプル四重極質量分析装置が検出器の場合でも、キャリーオーバー値 0.002 % を達成する必要があります。オートサンプラのオペレーティング設定を使うと、システム内に残りやすい化合物を含む、任意のアプリケーションのキャリーオーバーを最小化するための適切なパラメータを設定できます。

キャリーオーバーを最小化するには、オートサンプラの以下の機能を使用します。

- 内部ニードルの洗浄
- 外部ニードルの洗浄
- ニードルシートのバックフラッシュ
- 注入バルブクリーニング

ニードルの内部を含む流路は、通常のオペレーション中に絶えずフラッシュされているため、大部分の状況ではキャリーオーバーを完全に排出します。自動ディレイボリューム削除（ADVR）機能はディレイボリュームを低減しますが、同時にオートサンプラのフラッシングも抑えるため、キャリーオーバーが問題となる検体で使用することはできません。

低キャリーオーバを実現するには、以下の推奨事項を考慮してください。

- 必ず、メインパスポジションに注入バルブが付いたオートサンプラを使用してください。
- フラッシュポートを使用してニードルの外側を適切な溶媒でフラッシュしてください。少なくとも 10 s フラッシュしてください。
- 可能であれば、吸引速度を 10 µL/min まで下げてください。

- Agilent のキャップ付き 2 mL バイアル(スクリューキャップバイアル 2 mL (5182-0556)) を使用してください。
- シートが汚れている場合は、適切なシートフラッシュ手順を使用してください。
- サンプル化合物を溶解できるフラッシング溶媒を使用してください。
- 基本化合物用の酸性移動相を使用してください。

ほぼゼロのキャリーオーバを得るためのオートサンプラのフラッシングとクリーニング

日常の注入手順の間、サンプルループ、ニードルの内部、シートキャピラリ、注入バルブのメインチャンネルは流路内にあり、分析中は常に流路内に留まります。これは、分析が完了するまでの間にこれらの部品が移動相で連続的にフラッシュされることを意味します。注入バルブが流路外に切り替えられるのは、サンプルを吸引している間だけです。このポジションでは、ポンプの溶出液がカラムに直接導かれます。注入前に、ニードルの外側表面は新鮮な溶媒で洗浄されます。この洗浄は、オートサンプラのフラッシュポートを使用して実施され、ニードルシートの汚染を防ぎます。オートサンプラのフラッシュポートには、オートサンプラのハウジングに取り付けられたペリスタルポンプによって新鮮な溶媒が満たされます。フラッシュポートの容量は約 680 µL で、ポンプの送液能力は 6 mL/min です。洗浄時間を 10 s に設定すると、フラッシュポートの容量が新鮮な溶媒で 1 回以上満たされることになり、ほとんどの場合、ニードルの外側を洗浄するのに十分な設定です。

高分離度を達成する方法

分離能を向上させると、定性的および定量的分析機能が改善され、分離可能なピーク数が増え、分離をさらに加速する可能性が増えます。このセクションでは、以下の要素を検討することによって、分離能を向上させる方法について説明します。

- 選択性の最適化
- 小さな粒子径の充填剤
- 長いカラム
- 緩いグラジエント、高速フロー
- 最小限のカラム外デッドボリューム
- 注入溶媒とボリュームの最適化
- 十分に高速なデータ収集

2 つのピーク間の分離度は、次の分離度の方程式で表現できます。

$$Rs = \frac{1}{4}\sqrt{N}\,\frac{(\alpha - 1)}{\alpha}\,\frac{(k_2 + 1)}{k_2}$$

ここで、

- R_s = 分離度
- N = 理論段数（カラム効率の目安）、
- a = 選択性（2 つのピーク間）
- k_2 = 2 番目のピークの保持係数（旧称、キャパシティ係数）

分離度に最も大きく影響する項は選択性（a）であり、この項を変更する要素には、固定相の種類（C18、C8、フェニル基、ニトリルなど）、移動相、そして分離対象の溶質間の選択性の差異を最大化するための温度などの変更が含まれます。この操作は分析の本質的な部分であり、最も効率的に行うには、自動メソッド開発システムを使います。このシステムを使えば、異なるカラムや移動相の広範囲の条件を順序付けられたスカウティングプロトコルで評価できます。この節では、任意の固定相および移動相の分離度を向上させる方法について説明します。自動メソッド開発システムを移

動相選択のために利用し、スカウティングの各ステップで短いカラムを利用することで、高速分析を行うことができます。

分離能方程式によれば、次に重要な項は理論段数、言い換えると、効率 N であることがわかります。この項はいくつかの方法で最適化できます。N は粒子径に反比例し、カラムの長さに直接比例します。したがって、小さな粒子径と長いカラムを選択すれば、段数が大きくなります。圧力は、粒子径の逆二乗で増加し、カラムの長さに比例します。分離能は N の平方根で増加するため、カラムの長さを倍にすれば、分離度は 1.4 倍増加することになります。達成可能な数値は、移動相の粘性に依存します。これは圧力に直接関係するためです。メタノール混合物は、アセトニトリル混合物よりも高い背圧を生成します。アセトニトリルは粘性が低いことに加えて、優れたピーク形状が得られるため、良く使われますが、選択性はメタノールの方が優れています（特に、500 Da 以下の小さな分子の場合）。粘性は温度を上げれば減らせますが、その場合は分離の選択性を変化させる可能性があることに注意してください。経験すれば、選択性の増加または減少のいずれの原因になるかがわかります。流量や圧力を上げると、カラム内の摩擦熱が増加することに注意してください。これによって分散がやや増加して、選択性が若干変化する可能性があります。この増加や変化は、分離度が減少することで確認できます。後者の場合は、サーモスタットの温度を数度下げれば相殺できる可能性があります。これも経験で正解を導くことができます。

Van Deemter 曲線は、STM カラム内の最適の流量は、大きな粒子に対しては多く、流量が増加するに連れて平準化していくことを示しています。STM カラムの最適流量は通常、2 ml/min（内径 4.6 mm）および 0.4 ml/min（内径 2.1 mm）になります。

アイソクラティック分離では、保持係数 k を増加させると、溶質の保持時間が増加するため分離度が向上します。グラジエント分離では、リテンションは次の方程式の k^* で表現されます。

$$k^* = \frac{t_G}{\Delta\%B} \cdot \frac{F}{V_m} \cdot \frac{100}{S}$$

ここで、

- k^* = 平均 k 値
- t_G = グラジエントの時間の長さ（または、グラジエントのセグメント）（分）

- F = 流量（mL/ 分）
- V_m = カラムディレイボリューム
- D%B = グラジエント中の溶媒 B が変化する割合
- S = 定数（分子が小さい場合は、約 4 ～ 5）

この方程式によれば、k、ひいては分離度は、グラジエントを緩くし（目安としては、変化率 2 ～ 5 %/min）、流量を多く、ボリュームカラムを小さくすれば、増加することがわかります。流量を倍にしてもグラジエント時間を半分にすれば、k^* を変化させずに分離を維持できて、時間は半分で済むようになります。

カラム外デッドボリュームを減らすと分散が減るため、分離能は向上します。これは、1260 Infinity Binary LC では既にナロー ボアカラム（内径が 0.12 mm）のキャピラリ（カラムと検出器の間が最短であることをチェックしてください）と Max-light カートリッジ フロー セルで最適化されています。

最後に、狭いピークを正確にプロファイルするのに十分な速度を持つデータ収集であれば、分離能の向上に利することがあることを付記しておきます。

要約すると、次の手順を考慮して分離度を改善する必要があります。

- 分離度改善のための第 1 のステップは、必ず種々の固定相をテストすること、および最適分離のカラムを選択することです。これが、分離度にとって最も重要な要素です。
- 第 2 のステップは、長いカラムまたは均等にカップリングされたカラムを使用して理論段数を増やすことです。
- 第 3 のステップは、ピークをシフトしてリテンション ファクタを高くすることです。5 ～ 10 の k 値では、影響が大きくなります。k 値をこれより大きくすれば、影響は非常に低くなります。

実際には、適切な選択性を有するできるだけ長いカラムを使用すれば、それだけ分離度が改善されると言えます。

高分解能のための最適な機器コンフィグレーション

カラムコンパートメント

カラムコンパートメントは、内径が 4.6 mm のカラムの標準バージョンで使用できます。流量が 2 mL/min を超える場合、そして温度が 60 ° C を超える場合は、カラムコンパートメントの 1.5 µL クーラー / ヒーターを使用してカラム溶出ガスを検出器の温度まで冷却する必要があります。これにより、5 mL/min および 80 ° C においても UV 検出器のノイズレベルを最小限に抑えることができます（『57 ページ 図 18』を参照）。

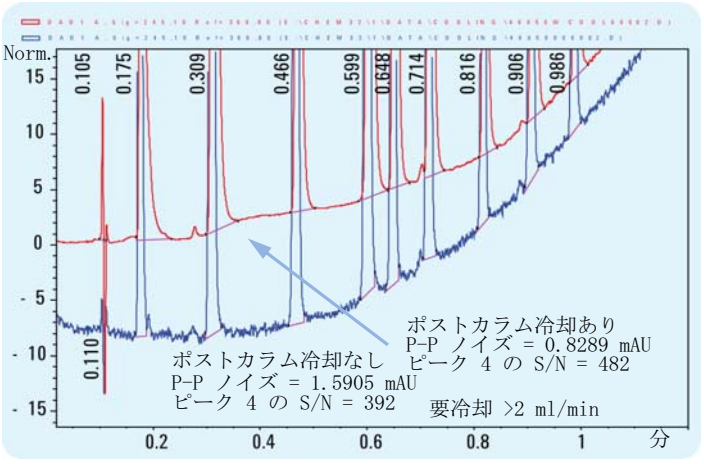


図 18　　ポストカラム冷却（PCC）のベースライン ノイズへの影響

内径が 2.1 mm のカラムを低流量で使用する場合は、小型の加温装置を使用してカラム外デッドボリュームを最小化する必要があります。

カラム外デッドボリューム

カラムで実現した高分解能を維持するには、特にカラムの後のカラム外デッドボリュームをできる限り低減する必要があります。

- 内径が 4.6 mm のカラムには、標準ディレイコンフィグレーションをポンプに使用します。『45 ページ 図 15』を参照してください。
- 内径が 2.1 mm のカラムには、低ディレイコンフィグレーションをポンプに使用し、低分散キットをカラムコンパートメントに取り付ける必要があります。また、最高 UV 感度を得るには、短いミキサーも推奨されます。『43 ページ 図 13』と『44 ページ 図 14』を参照してください。
- 注入量も重要で、サンプルが有機溶媒中に溶解している場合には特に重要です。このような場合には、カラムの最上部に化合物が集中するように、低いパーセンテージの有機相でグラジエントが開始する必要があります。これにより、注入に起因するピーク分散を抑えることができます。
- 10 mm Max-Light カートリッジセルには、低拡散ボリューム（s ボリュームは 1.0 µL）が付属しています。そのため、ボリュームのさらなる最適化は不要です。
- 高感度が必要なために代替の 60 mm Max-Light 高感度セルを使う場合は、セルボリュームを 3 mm および 4.6 mm の内径のカラム用に最適化する必要があります。

データレート

UV 検出器のデータレートの設定を、適切に選択する必要があります。データレートの設定が低すぎると、ピーク幅が拡がって分解能の低下を招きます。『59 ページ 図 19』を参照してください。

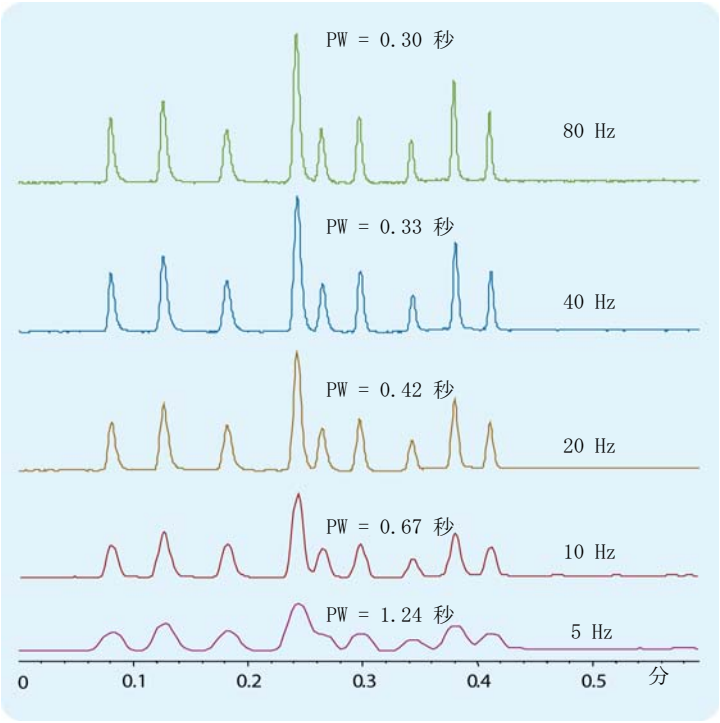


図 19　ピーク幅と UV データレートの関係

『60 ページ 表 6』に、ピーク幅、分解能、ピークキャパシティのデータレートへの依存性を示します。高速および超高速 LC の場合には、高いデータレートが必要です。データレートが低いと、カラムで得られる分離が検出器内で損なわます。

表 6　データレートとクロマトグラフの性能の関係

データレート	ピーク幅	分解能	ピークキャパシティ
80 Hz	0.300	2.25	60
40 Hz	0.329	2.05	55
20 Hz	0.416	1.71	45
10 Hz	0.666	1.17	29
5 Hz	1.236	0.67	16

80 Hz のデータレートの、20 Hz のデータレートに対する各項目の改善結果比較：

- ピーク幅：

  – 30 %
- 分解能：

  + 30 %
- ピークキャパシティ：

  + 40 %
- 見かけ上のカラム効率：

  + 70 %

クロマトグラフ条件

既に述べたように、クロマトグラフ条件は分析対象の化合物に依存します。ただし、以下のようないくつかの経験則もあります。

- 中程度の流量を使用する必要があります。ただし、最近の実験によれば、分離の改善にとって流量の増加が有利に働くことも示されています。サブ 2 マイクロン粒子が充填された内径が 4.6 mm のカラムの場合は、2 mL/min の流量が開始時の値として推奨されます。内径が 2.1 mm のサブ 2 マイクロンカラムの場合は、0.4 mL/min での開始が適切です。
- 中程度のグラジエントを使用し、たとえばグラジエントの変化を 1 分あたり 2 – 5 % にする必要があります。
- カラム温度は、最適化のための追加パラメータです。温度は分離に影響する可能性があるため、見落さないでください。

感度を向上させる方法

分離メソッドの感度は、固定相 / 移動相の選択に依存しています。シャープなピークと安定したベースラインを持ち、ノイズが最小化された良好な分離が目標となります。機器構成の選択も影響しますが、影響が最も大きいのは検出器の設定です。

高感度のための最適な機器コンフィグレーション

一般的な考慮事項

- 1260 Infinity バイナリポンプでベースライン ノイズを最小限に抑えるには、標準ディレイボリュームコンフィグレーションが推奨されます。
- また、注入量とサンプル溶解溶媒も重要です。ピークの高さが低下する可能性があるので、注入によるピーク分散を避けるために、化合物はカラムの上部にある部分が分析対象となるよう注意する必要があります。そのためには、サンプルを、移動相よりも低い溶出度の溶媒組成で溶解する必要があります。
- カラム温度は、カラムの各ピークの長いリテンションを避けるために、低すぎないようにする必要があります。これは、ピーク分散の形成やピーク高さの低下の要因にもなります。
- UV 検出器のデータレートは、実際のピーク幅に応じて選択する必要があります。ノイズレベルが高くなるため、必要なデータレートを上回らないようにしてください。
- 使用可能な UV 検出器は、Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212B) と Agilent 1260 Infinity 可変波長検出器 (G1314F) であり、80 Hz のデータレートによってノイズとドリフトのレベルが大幅に低減されます。
- 『「フロー セルの選択」64 ページ』に、G4212B DAD とともに利用可能なフロー セルの概要を示します。G1314F VWD とともに使用されるフローセルについては、Agilent 1260 Infinity 可変波長検出器のユーザーマニュアルを参照してください。

クロマトグラフ条件

シグナル / ノイズ比を最適化するには、ピークが速やかに溶出するかどうかを利用します。

- 低い k 値でピークを溶出するには、高い流量を使用する必要があります。
- また、低い k 値でピークを溶出するには、速いグラジエントを適用することもできます。

カラム

感度は、シグナル / ノイズ (S/N) 比で表現されます。これは、ピークの高さを最大化し、ベースライン ノイズを最小化するために必要となるパラメータです。ピーク拡散を減らせばピークの高さを維持できるため、カラム外ボリュームは、短く細い内径のキャピラリを使って、正しく取り付けることにより、最小化する必要があります。小さな内径のカラムの使用は、ピークの高さを高くするため、限られたサンプル量しか使えないアプリケーションには理想的です。同じサンプル量でも、小さな内径のカラムに注入した方が、カラムの内径が原因となる希釈が少なく、感度は向上します。たとえば、カラムの内径を 4.6 mm から 2.1 mm にすれば、カラム内の希釈が少なくなるため、ピークの高さは理論的には 4.7 times 倍増加します。マススペクトルメータ検出器の場合は、細いカラムで流量を減らせば、イオン化の効率が上がるため感度が向上します。

検出器の設定

検出器には、性能を最適化するために使われるパラメータが多数あります。以下のセクションでは、検出器のパラメータがパフォーマンス特性に与える影響について説明します。

- フロー セルが感度に与える影響
- 波長と帯域幅が感度、選択性、直線性に与える影響
- スリット幅が感度、スペクトル分解能、直線性に与える影響
- ピーク幅が感度と分解能に与える影響

フロー セルの選択

さまざまな種類の Max-Light カートリッジフロー セルを利用できます。『64 ページ 表 7』を参照してください。

表 7 Max-Light カートリッジフロー セルの仕様

カートリッジセル	• Max-Light カートリッジセル（ 10 mm、V（s）1.0 µL）(G4212-60008) • Max-Light カートリッジセルバイオイナート（10 mm、V(s) 1.0 µL）(G5615-60018) • Max-Light カートリッジセル（ 60 mm、V（s）4.0 µL）(G4212-60007) • Max-Light カートリッジセルバイオイナート（60 mm、V(s) 4.0 µL）(G5615-60017) • HDR Max-Light カートリッジセル（ 3.7 mm、V(s) 0.4 µL）(G4212-60032) • ULD Max-Light カートリッジセル（ 10 mm、V(s) 0.6 µL）(G4212-60038) • Max-Light カートリッジテストセル（G4212-60011）
最高圧力	70 bar（1015 psi）最高動作圧力（MOP）[1] 150 bar（2175 psi）最高偶発圧力（MIP）[2]
pH 範囲	1.0 ～ 12.5（溶媒に依存）

[1] 最高動作圧力（MOP）：標準の検査条件下でシステムが連続動作できる最高の圧力。

[2] 最高偶発圧力（MIP）：システムが短時間に受ける可能性のある最高の圧力。

標準のアプリケーション

Max-Light カートリッジセル（ 10 mm、V（s）1.0 µL）(G4212-60008) は、広範囲のアプリケーションをカバーします。

- 少なくとも 2.1 mm ID またはそれ以下までの、すべてのカラム内径
- 最低のピーク分散（ピーク幅 x 流量）が ～ 2 µL までのアプリケーション［例：pw = 0.04 min、流量 = 0.1 mL/min によりピーク分散 0.04 min x 0.1 mL/min = 0.004 mL = 4 µL が得られる］

高感度

より高い感度が必要な場合は、Max-Light カートリッジセル（ 60 mm、V (s) 4.0 µL）(G4212-60007) を使用することができます。このセルは、検出限界 (LOD) を約 3 分の 1（アプリケーションに依存）に下げることによって、検出器を拡張します。

超低分散

Max-Light カートリッジ ULD セルは、G4212A DAD および G4212B DAD とともに使用することができます。このセルは、現存する次の超低分散キットソリューションの一つの必要条件となります： 1290 Infinity 超低分散キット (5067-5189). このセルを、超低分散ソリューションの一部とする必要があります。

ハイダイナミックレンジ

Max-Light カートリッジ HDR セルは、G4212A DAD および G4212B DAD とともに使用することができます。このセルは、2013 年 3 月 /4 月に導入されるハイダイナミックレンジ (HDR) ソリューションの一部として必要になります。

注記

フロー セルを過圧力から保護するには (LC/MS を伴うシステムなど)、次を設置してください： インライン圧力リリーフバルブキット (G4212-68001)。Agilent 1200 Infinity シリーズダイオードアレイ検出器のマニュアルを参照してください。

カラムの詰まりを回避する方法

サブ 2 マイクロンの粒子が充填されたカラムでも、充填剤の漏出を避けるために細孔径のフリットが必要です。そのため、これらのフリットが、サンプル、移動相、あるいは機器自体から発生する粒子状物質で詰まってしまうリスクが増大します。カラムを保護するために、カラムの前に小型フィルタ（『67 ページ 図 20』）を追加使用することができます。また、サンプルを完全にフィルタリングするか遠心分離する、あるいはその両方を行なうこと、および移動相内のあらゆる種類の粒子状物質を避けることも推奨されます。

最良の結果を得るには、以下の簡単な使用ガイドに従ってください。

1 カラムの取り付けと分析は、必ずカラム上にマークされているフロー方向に従い行ってください。

2 溶媒は、高品質で、クロマトグラフィグレードのものだけを使用してください。

3 すべての緩衝液とすべてのサンプルは、使用する前に適切な 0.2 µm フィルタを使用してフィルタリングしてください。

4 移動相緩衝液のボトルは、24 - 48 h ごとに交換してください。移動相をボトルに追加せずに、必ず新しいボトルを使用してください。

5 高緩衝塩移動相（> 50 mM）は、高アセトニトリル濃縮液と組み合わせて使用しないでください。沈殿物が生じる可能性があります。

6 粒子状物質を捕獲してカラムの寿命を伸ばすために、インラインフィルタの使用をお勧めします。ご使用のカラムに適した次の 1260 Infinity インラインフィルタを使用してください：1260 Infinity LC インラインフィルタ、2.1 mm、0.2 µm ポアサイズフィルタ、最大 600 bar、接続キャピラリ 70 x 0.12 mm SS（5067-1551）は内径が 2.1 のカラム用、1260 Infinity LC インラインフィルタ、4.6 mm、0.2 µm ポアサイズフィルタ、最大 600 bar、接続キャピラリ 90 x 0.17 mm SS（5067-1553）は内径が 4.6 mm または 3.0 mm のカラム用。圧力が 10 % 上昇したら、フィルタを交換してください。

7 カラムを機器に取り付ける前に、移動相を含む緩衝液のポンプ（カラムまでの接続部分）をパージし、5 mL の溶媒を使用してフラッシュしてください。

8 適合性のある移動相によるカラムのフラッシュを、内径が 2.1 mm のカラムの場合は 0.1 mL/min、内径が 3.0 mm のカラムの場合は 0.2 mL/min、および内径が 4.6 mm のカラムの場合は 0.4 mL/min の流量でゆっくり開始してください。5 分間かけて、必要な流量に増やしてください。

9 圧力が安定したら、カラムを検出器に取り付けてください。

10 カラムと検出器は、使用する前に、移動相の 10 カラムボリュームを使用して平衡を保ってください（カラムのサイズに応じて 1 - 5 mL）。

11 過圧力は避けてください。シーケンスを開始する前に、グラジエントの圧力範囲（100 - 130 bar、またはそれ以上の場合がある）をチェックしてください。

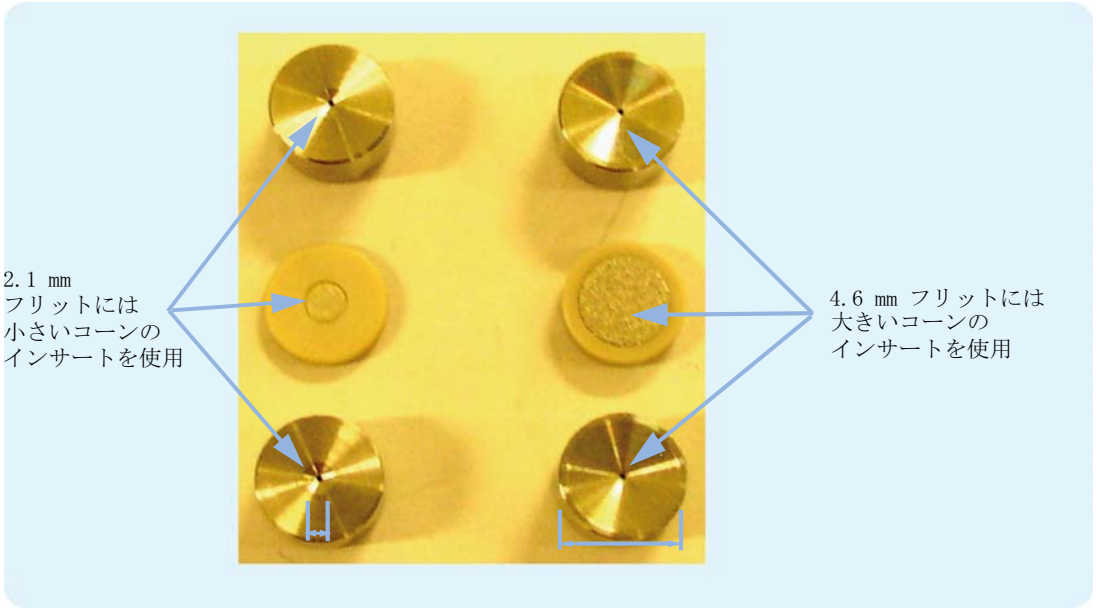


図 20 1.8 µm 粒子が充填された内径が 4.6 および 2.1 mm のカラムの保護、0.2 µm ポアサイズのインレットフリット

3 Agilent 1260 Infinity Binary LC の最適化
カラムの詰まりを回避する方法

4 システムの設定とインストール

ソフトウェアのインストール 70
モジュールの取り付け 72
システムモジュールの取り付け 72
ネットワークへの統合 72
流路内のキャピラリとチューブの接続 73
システムのプライミング 78

この章では、ソフトウェアのインストール、モジュールの取り付け、システム運用の準備について説明します。

ソフトウェアのインストール

ソフトウェアコントローラとデータシステムのインストール

ソフトウェアのインストール手順について詳しくは、検出器のマニュアルとソフトウェアマニュアルを参照してください。

Agilent Lab Advisor ソフトウェアのインストール

Agilent Lab Advisor ソフトウェアのインストール手順について詳しくは、Lab Advisor DVD のソフトウェアマニュアルを参照してください。

Agilent Lab Advisor は、従来 ChemStation ソフトウェアに含まれていた診断機能を再配置して拡張したものです。

Agilent Lab Advisor は、ラボ内の機器をリアルタイムで常時監視するための Windows ベースのアプリケーションであり、高度なカウンタを使用して保守とサービスの必要性を自動的に通知することで生産性を向上させます。この機能を使用すると、結果が影響を受ける前に問題を修復することが可能です。このソフトウェアには、広範囲におよぶユーザー情報とマニュアル一式、機器の設定、キャリブレーション、保守を支援する一連のカルキュレータとツールのセット、正常なパフォーマンスを検証するためのテストおよび診断ルーチンが含まれています。また、Agilent Lab Advisor は、起こりうる機器障害についてのフィードバックと解決策を備えています。このソフトウェアは、Agilent データシステムの有無に関わらず使用できます。

このソフトウェアの監視対象は、以下のとおりです。

- LC モジュールのステータス
- EMF（アップグレードまたは交換の必要性を判定するため）

また、以下の機能も備えています。

- 使いやすい自動化されたテスト
- ご利用の PC またはラボのネットワークに接続されて電源供給をうけている、サポート対象の LAN 接続機器の識別
- 一般的な機器障害について、部品交換やトラブルシューティング作業を自動的に推奨

モジュールの取り付け

システムモジュールの取り付け

モジュールの設置方法については、個々のモジュールのマニュアルを参照してください。これらのマニュアルには、仕様、保守、部品についての説明も記載されています。

ネットワークへの統合

システムをネットワークに接続する方法については、モジュールのユーザーマニュアルを参照してください（LAN Configuration の章）。

流路内のキャピラリとチューブの接続

システムコンフィグレーションに応じて、異なる長さと内径のキャピラリが使用されます。それについては以下で説明します。

モジュール内のキャピラリとチューブの接続については、各モジュールのマニュアルを参照してください。

標準ディレイボリュームコンフィグレーション用の接続

『74 ページ 図 21』に、1260 Infinity Binary LC の標準ディレイボリュームコンフィグレーションに使用する流路内のキャピラリとチューブの接続を示します。

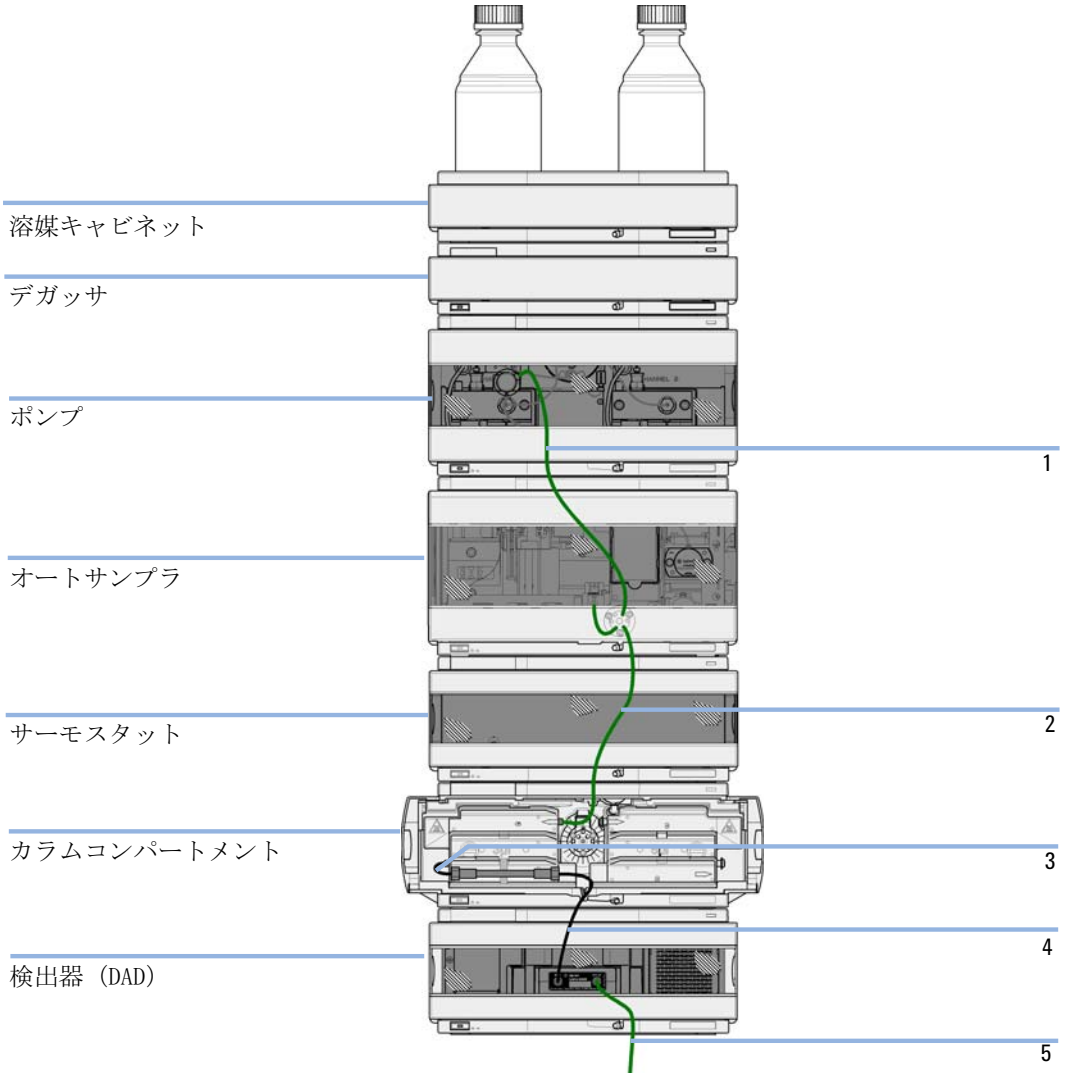


図 21　流路内のキャピラリとチューブの接続（標準ディレイボリュームコンフィグレーション）

品目	部品番号	説明
1	G1312-87303	キャピラリ ST 0.17 mm x 400 mm S/S (ポンプからオートサンプラへ)
1	G1312-87304	SUS キャピラリ 700 mm、内径 0.17 mm、1/32 - 1/32 (ポンプから冷却オートサンプラへ)
2	G1367-87304	キャピラリ ST 0.17 mm x 250 mm S/S (オートサンプラから TCC へ)
2	01090-87306	キャピラリ ST 0.17 mm x 380 nm S/S (冷却オートサンプラから TCC へ)
3	G1316-87300	キャピラリ ST 0.17 x 90 mm S/S (TCC からカラムへ)
4	G1315-87311	キャピラリ ST 0.17 mm x 380 mm S/S (カラムから DAD へ)
5	5062-2462	PTFE チューブ 0.8 mm x 2 m、再注文用は 5 m (DAD から廃液へ)
5	5062-8535	廃液アクセサリキット (可変波長検出器から廃液へ)

中および低ディレイボリュームコンフィグレーション用の接続

『76 ページ 図 22』に、1260 Infinity Binary LC の中および低ディレイボリュームコンフィグレーションに使用する流路内のキャピラリとチューブの接続を示します。

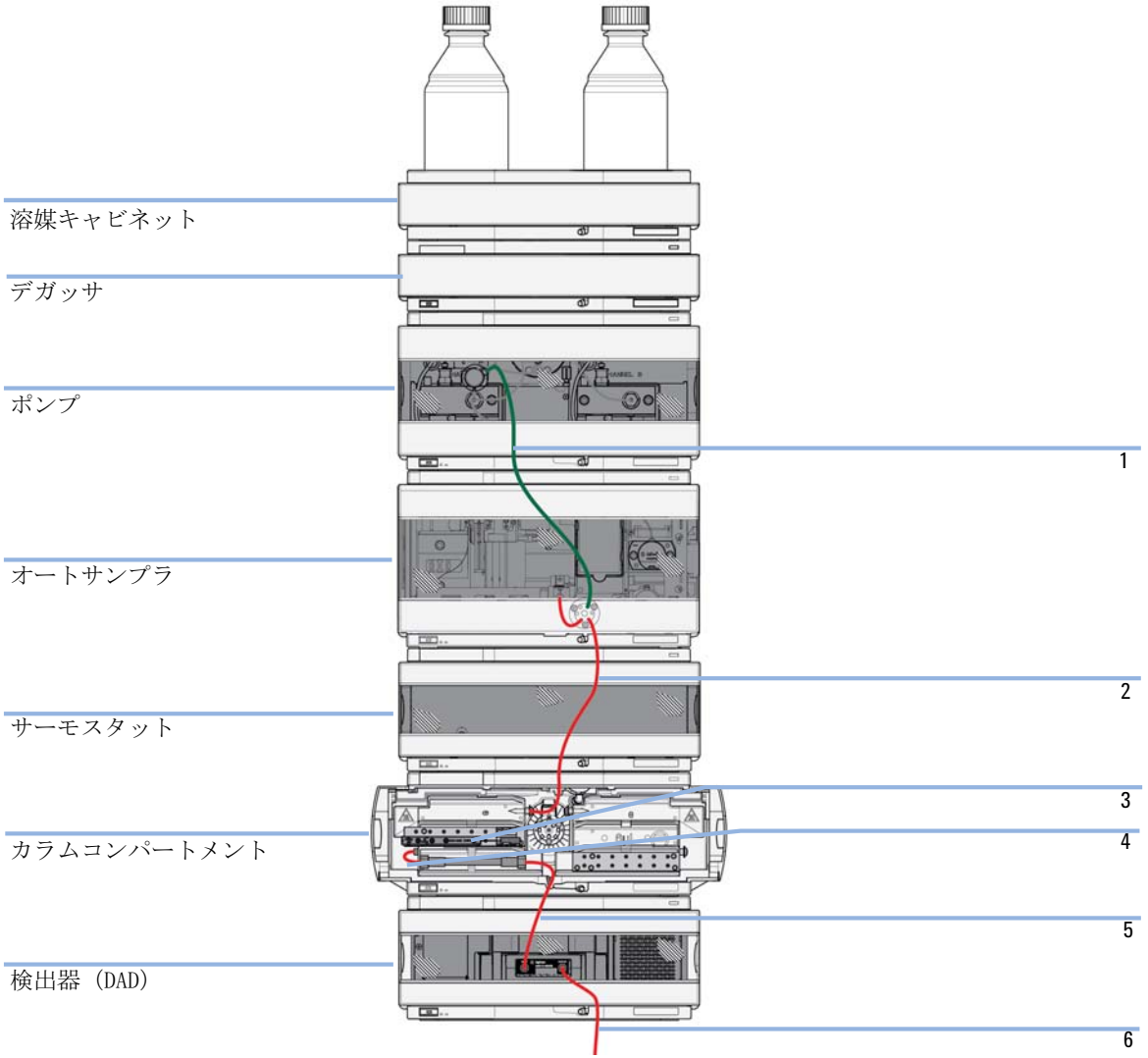


図 22　流路内のキャピラリとチューブの接続（中および低ディレイボリュームコンフィグレーション）

品目	部品番号	説明
1	G1312-87303	キャピラリ ST 0.17 mm x 400 mm S/S (ポンプからオートサンプラへ)
1	G1312-87304	SUS キャピラリ 700 mm、内径 0.17 mm、1/32 - 1/32 (ポンプから冷却オートサンプラへ)
2	G1313-87304	キャピラリ ST 0.12 mm x 180 mm S/S (オートサンプラから TCC へ)
2	01090-87610	キャピラリ ST 0.12 mm x 280 mm S/S (冷却オートサンプラから TCC へ、品目 3 が取り付けられている場合は品目 3 へ)
3	G1316-80002	ヒーター延長（内径 0.12 mm 、内容量 1.6 µL)
3	G1316-80003	ヒーター縮小（内径 0.12 mm 、内容量 1.6 µL)
4	01090-87611	キャピラリ ST 0.12 mm x 105 mm S/S (TCC からカラムへ、品目 3 が取り付けられている場合は不要)
5	G1315-87312	キャピラリ ST 0.12 mm x 150 mm S/S (カラムから DAD へ)
6	5062-2462	PTFE チューブ 0.8 mm x 2 m、再注文用は 5 m (DAD から廃液へ)

システムのプライミング

最初のプライミング

日時：

デガッサまたは溶媒チューブを使用するためには、システムのプライミングが必要です。プライミング溶媒には、ほとんどすべての HPLC 溶媒との混和性を持ち、湿潤特性が良好なイソプロパノールをお勧めします。

必要な部品：

番号	説明
1	イソプロパノール

必要な準備：

それぞれのモジュールマニュアルに記載の通り、すべてのモジュールの流路を接続します。

イソプロパノール 100 mL を使用して各溶媒ボトルを満たします。

システムの電源を入れます

警告

キャピラリまたはチューブのフィッティングを開けると、溶媒が漏れ出す可能性があります。

毒性や危険性のある溶媒と試薬の取り扱いには、健康上のリスクがある恐れがあります。

➔ 試薬メーカーから提供されている取扱説明書および安全データシートの記載に従って、適切な安全手順（ゴーグル、安全手袋、防護衣を着用するなど）を守ってください。特に、毒性の溶媒や危険な溶媒を使用する場合は、注意してください。

注記

Lab Advisor のパージツールを使用することで、ポンプを自動的にパージできます。

注記

ポンプによりボトルから溶媒を吸引できない場合は、シリンジを使用し、チューブとデガッサを通して溶媒を手動で移動してください。

注記

シリンジを使用してデガッサをプライミングする際、溶媒はデガッサチューブを介して非常に速く汲み上げられます。そのため、デガッサ出口の溶媒は完全に脱気されません。分析を開始する前に、目的とする流量で約 10 分間送液を行ってください。これによって、デガッサがデガッサチューブ内の溶媒を適正に脱気できるようになります。

1. ポンプのパージバルブを開きます
2. 流量を 5 mL/min に設定します。
3. チャンネル A1 を選択します
4. ポンプの電源を入れます。
5. チャンネル A1 のチューブ内の溶媒がポンプ方向に進むか観察します。進まない場合、溶媒切り替えバルブから溶媒チューブを取り外して、シリンジをシリンジアダプタに取れ付け、デガッサから液体を抜きます。溶媒切り替えバルブにチューブを再度取り付けます。
6. 30 mL のイソプロパノールを送液して、残った気泡を取り除きます。
7. 次の溶媒チャンネルに切り替え、すべてのチャンネルがパージされるまでステップ 5 と 6 を繰り返します。
8. 流量を Off にして、パージバルブを閉じます。

定期的なプライミング

日時： 一定時間（たとえば一晩中）ポンプシステムの電源を切った場合、デガッサとポンプの間の溶媒チャンネル中に空気が再度拡散します。揮発性成分を含む溶媒が長期間、流れずにデガッサ内に滞留すると、揮発性成分がわずかに失われます。

必要な準備： システムの電源を入れます

注記 Lab Advisor のパージツールを、ポンプの自動的なパージに使用できます。

1. ポンプのパージバルブを反時計回りに回して、バルブを開き、流量を 5 mL/min に設定します。
2. デガッサとすべてのチューブを少なくとも 10 mL の溶媒で洗浄します。
3. ポンプのほかのチャンネルに対してステップ 1 と 2 を繰り返します。
4. アプリケーションに必要な組成と流量に設定して、パージバルブを閉じます。
5. アプリケーションを開始する前に、約 10 分間送液してください。

溶媒の変更

日時： チャンネルの溶媒を適合性のない（混合できない溶媒への置換、一方の溶媒に緩衝液が含まれている）別の溶媒に置き換える際には、以下の手順に従って、塩の沈殿によるポンプの詰まりや、システムの部品内における残液の液滴を防止することが必要です。

必要な部品：

番号	部品番号	説明
1		パージ用の溶媒については、『82 ページ 表 8』を参照してください
1	5022-2184	ユニオン ZDV

必要な準備： カラムを取り外し、ZDV フィッティングに交換します。
適切な中間溶媒を入れたボトルを用意します（『82 ページ 表 8』を参照）。

1 チャンネルに緩衝液が入っていない場合はステップ 4 に進みます。
2 溶媒取り入れ口フィルタを水のボトルの中に入れます。
3 設置したチューブに適した流量で（一般的に 3 - 5 mL/min）10 分間、チャンネルをフラッシュします。
4 システムの流路をアプリケーションに合わせて調整します。

注意

水性緩衝液の緩衝塩は残留イソプロパノール中に沈殿する可能性があります。
塩の沈殿によってキャピラリやフィルタが詰まるおそれがあります。

➔ 有機溶媒を注入する前に、まず高濃度の塩が入った溶媒ラインを水で洗い流してください。

➔ 水性緩衝液を溶媒として使用中のチャンネルに対してはステップ 5 から 7 を実行しないでください。

5 溶媒ボトルをイソプロパノールのボトルに取り替えます。
6 設置したチューブに適した流量で（一般的に 3 - 5 mL/min）5 分間、チャンネルをフラッシュします。
7 イソプロパノールのボトルをアプリケーション用の溶媒ボトルと取り替えます。

8 ポンプのほかのチャンネルに対してステップ 1 から 7 を繰り返します。

9 希望するカラムを取り付け、アプリケーションに対応した組成と流量を設定して、分析開始前に約 10 分間流し、システムを平衡にします。

表 8 さまざまな目的に対するプライミング用溶媒の選択

内容	溶媒	注釈
インストール後	イソプロパノール	システムから気泡を洗い出すために最適な溶媒
逆相と順相を切り替える際（両方の場合）	イソプロパノール	ほとんどすべての溶媒と混和性がある
インストール後	エタノールまたはメタノール	イソプロパノールが入手できない場合の代用（第 2 の選択肢）
緩衝液使用中にシステムを洗浄する	HPLC クラスの水	析出した緩衝液の再溶解に最適な溶媒
水系溶媒の変更後	HPLC クラスの水	析出した緩衝液の再溶解に最適な溶媒
順相シールの取り付け後（PE シール（2 個入）（0905-1420)）	ヘキサン + 5 % イソプロパノール	湿潤特性が良好

5 クイックスタートガイド

クイックスタートガイドについて 84
システムの準備 85
システムをオンにする 85
デフォルトメソッドの読み込み 86
オンラインプロットの構成 87
ポンプのパージ 89
Method and Run Control（メソッド & ランコントロール）ビュー内のデータ取込 90
アイソクラティック標準試料によるシステムチェックアウトのメソッド パラメータ 90
メソッドの設定 94
シングルラン用のメソッドの実行 96
データ分析 98
データ分析ビュー 99
シグナルの積分 100
レポートの指定 101

この章では、1260 Infinity Binary LC によるデータ取込とデータ分析について説明します。

クイックスタートガイドについて

この章では、Agilent 1260 Infinity Binary LC を運用する方法について説明します。この章は、インストール後に初めて分析を行うためのクイックスタートガイドです。チュートリアルの例題として使ったり、システム全体の機能を確認するために使います。また、メソッド パラメータの詳しい説明も含んでいます。

この例題では、Agilent 1260 Infinity Binary LC に用意されているカラムと標準試料を使用して、設定と分析を行う方法について説明します。この例題では OpenLAB CDS ChemStation エディションのメニューとコマンドを使いますが、同等の機能は、OpenLAB CDS EZChrom エディションや MassHunter ソフトウェアなどの代替制御オプションにも用意されています。

以降、ChemStation および EZChrom は、常に Agilent OpenLAB CDS ChemStation エディションおよび Agilent OpenLAB CDS EZChrom エディションをそれぞれ示すこととします。

注記

ここでは、システムはインストール済みで動作中であり、初期プライミングも終わっているものと仮定します（『「最初のプライミング」78 ページ』を参照）。UV ランプは、少なくとも、定量解析を行う 30 分前にオンにしておく必要があります。

システムの準備

システムをオンにする

システムの準備が完了していない場合、つまりレディ状態ではないソフトウェアがある場合は、以下の手順を実行します。

1 コンピュータシステムをオンにして、Windows デスクトップが表示されるのを待ちます。

2 各 LC モジュールの左下にあるボタンを使って、電源をオンにします。

ボタンの中央には、緑のランプが見えます。

3 アイコンをクリックして、コントロールソフトウェアを起動します（構成済みの場合）。あるいは、**スタート** > **すべてのプログラム** > Agilent Technologies > OpenLab > OpenLab **コントロールパネル** を選択します。**機器** の下のナビゲーションウィンドウで該当する機器を選択し、**オンライン起動** をクリックします。

メソッド & ランコントロール ビューに、ChemStation ソフトウェアが表示されます。モジュールは、最初はスタンバイモードでノットレディ状態です。ただし、直ちに初期化が行われ、レディ状態となるオートサンプラだけは例外です。

4 各モジュールを個別にオンにするには、対応するアイコンを右クリックして、コンテキストメニューから［**モジュール名**］**に切り替えオン** を選択します。

あるいは、システムダイアグラムの右下にある **システム オン / オフ** ボタンをクリックして、システム内のすべてのモジュールを一斉にオンにします。時間が経過して設定ポイントに到達すると、システムステータスは、Not Ready（黄色）から Ready（緑色）に変化します。

デフォルトメソッドの読み込み

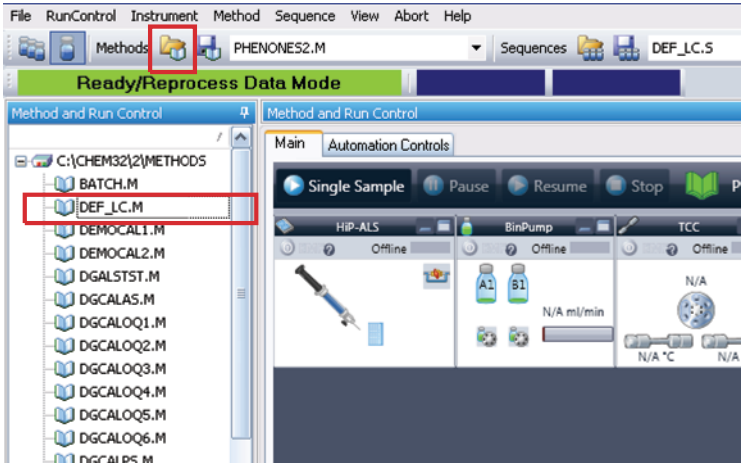
ChemStation には、デフォルトのメソッド DEF_LC.M があります。このメソッドは、最初の実行時、または新しいブランクテンプレートが必要になった時点で、読み込まれます。このメソッドには、すべてのモジュールのデフォルト設定が含まれています。

この手順では、メソッド DEF_LC.M を読み込みます。このメソッドを使って、すべてのパラメータにデフォルト設定を設定します。またはブランクのメソッドテンプレートを取得して、新しいメソッドを設定します。

1 ChemStation の **メソッド & ランコントロール** ビューに移動します。

2 メニューバーで **メソッド** > **新しいメソッド...** を選択し、コンテキストメニューから DEF_LC.M を選択します。

あるいは、メニューバーの下の **メソッド読み込み** アイコン を使ったり、ナビゲーションペイン内の **メソッド** タブのメソッド名 DEF_LC.M をダブルクリックします。



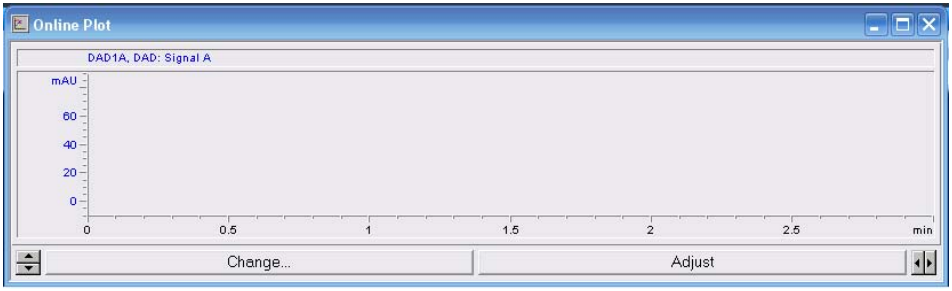
デフォルトのメソッド（DEF_LC.M）は、一連のデフォルトパラメータを持っており、これらを変更することによって新しいメソッドを作成します。たとえば、流量にゼロを設定し、**メソッド情報** と **メソッド履歴** をブランクにします。

注記

このメソッドには、新しいパラメータは上書きできないことに注意してください。したがって、**上書き保存** をクリックすれば、**名前を付けて保存** 機能にリダイレクトされるので、異なるメソッド名を入力する必要があります。

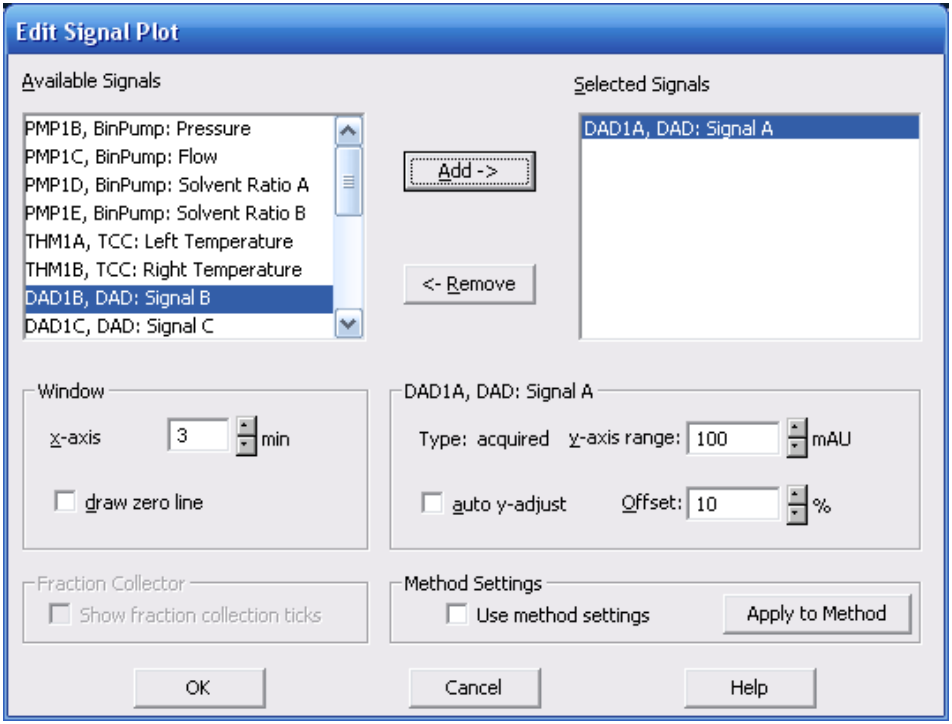
オンラインプロットの構成

1 **オンライン プロット** ウィンドウが表示されない場合は、以下の手順を実行します。View > Online Signals > Signal Window 1 をクリックすると、ウィンドウが表示されます。



2 **オンライン プロット** ウィンドウ内に必要なシグナルを構成するには、**変更…** をクリックします。

シグナルプロットの編集 設定ページが表示されます。



3 **使用可能シグナル** ボックスで必要なシグナルを強調表示し、**追加** をクリックして、それらを **シグナル選択** ボックスに移します。

4 各シグナルに対して個々の設定を行うには、**シグナル選択** ボックス内のシグナルを強調表示し、ページの下半分で必要な値を設定します。

注記

検出器シグナルの他に、温度や圧力のようなパラメータのトレース結果もプロットできます。Apply to Method を使って、このページ内の設定をメソッドに保存します。

［**オンラインプロット**］ウィンドウは、電子グラフ用紙のように機能します。つまり、検出器の出力やその他の出力パラメータを継続して記録します。シグナルはウィンドウの右から左に描画されます。最大で過去 90 min のデータにアクセスできます。これは、ベースラインをチェックするため、および前の注入を観察するために役立ちます。X 軸と Y 軸のスケールは、各軸上の上 / 下ボタンを使用して直接調整できます。

［**オンラインプロット**］ウィンドウの［**調整**］ボタンを使用すると、選択したシグナルの現在のポイントをゼロラインに移動できます。選択したシグナルは、Y 軸のラベルの色で示されます。シグナルの上、またはプロット上部の関連シグナルの説明をクリックすることによって、特定のシグナルを選択できます。

[Balance] ボタンをクリックすると、すべての検出器がゼロになります。

注記

［**オンラインプロット**］ページを変更しても、個々のデータファイルに保存されているデータには一切影響はありません。

ポンプのパージ

以下の場合に、ポンプをパージします。

- ポンプを初めて使用するとき。
- システムを使用する前、または溶媒を交換するとき。新鮮な溶媒でポンプをパージする必要があります。
- ポンプが数時間以上アイドルになっていたとき（溶媒ライン内に空気が拡散している可能性があるため、パージすることをお勧めします）。
- 溶媒の容器が満たされ、システムに新鮮な溶媒を満たすためにポンプのパージが必要になったとき。異なる溶媒を使う場合は、新しい溶媒が前の溶媒と混和性があることを確認してください。必要に応じて、混和性がある溶媒（多くの場合に、イソプロパノールが適しています。溶媒混和性の表をチェックしてください）が使われる中間ステップを使ってください。

パージ手順についての詳細は、『「定期的なプライミング」80 ページ』を参照してください。

Method and Run Control（メソッド & ランコントロール）ビュー内のデータ取込

アイソクラティック標準試料によるシステムチェックアウトのメソッド パラメータ

1260 Infinity Binary LC のチェックアウトでは、アイソクラティックテスト用混合物（ Agilent アイソクラティック標準試料（01080-68704））によるテスト分析が、ご使用のシステムとともにオーダーおよび納品されたカラムで実行されます。

Agilent アイソクラティック標準試料（01080-68704）には、以下の成分がメタノール中に溶解して含まれています。

- フタル酸ジメチル
- フタル酸ジエチル
- ビフェニル
- o- テルフェニル

このテスト用混合物の分離のためのメソッド パラメータの概要は、標準ディレイボリュームコンフィグレーションについては 『91 ページ 表 9』に、低ディレイボリュームコンフィグレーションについては 『92 ページ 表 10』に記載されています。

表 9 最初の分離分析用のメソッドパラメータ - 標準ディレイボリュームコンフィグレーション

モジュール	パラメータ	設定
ポンプ	溶媒 A	水
	溶媒 B	アセトニトリル
	流量	4.0 mL/min
	溶媒組成	40 % A、60 % B
	[ストップタイム]	1 min（1 min ポストタイム）
オートサンプラ	注入量	1 µL
カラムコンパートメント	カラム	• Column Eclipse Plus C18、4.6 x 100 mm、3.5 µm (959961-902) • Column Poroshell 120 EC-C18、3.0 x 50 mm、2.7 µm (699975-302) • Column Poroshell 120 EC-C18、4.6 x 50 mm、2.7 µm (699975-902)
	温度	40 ° C
検出器	シグナル A	波長 :250 nm、帯域幅 :4 nm リファレンス波長 :360 nm、 リファレンス帯域幅 : 100 nm

表 10　最初の分離分析用のメソッドパラメータ - 低ディレイボリューム コンフィグレーション

モジュール	パラメータ	設定
ポンプ	溶媒 A	水
	溶媒 B	アセトニトリル
	流量	0.75 mL/min
	溶媒組成	40 % A、60 % B
	ストップタイム	1.2 min（1 min ポストタイム）
オートサンプラ	注入量	1 µL
カラムコンパートメント	カラム	カラム： SB-C18、4.6x 50 mm、1.8 µm、600 bar（827975-902）
	温度	40 ° C
検出器	シグナル	波長 :250 nm、帯域幅 :4 nm リファレンス波長 :360 nm、 リファレンス帯域幅： 100 nm

チェックアウト仕様：

- クロマトグラムに 4 つのピークが見られる
- **強度テスト** - 合格
- **波長キャリブレーション**± 1 nm

チェックアウトの準備

1 溶媒ボトル A を HPLC グレードの水で満たし、溶媒ボトル B を HPLC グレードのアセトニトリルで満たします。

2 オンラインデガッサが取り付けられている場合は、付属品のシリンジを使用してオンラインデガッサの各チャンネルをパージします。

3 ポンプのパージバルブを開き、各チャンネルを 5 mL/min でパージします。

これを十分に行い、システム内の空気を取り除いてください。

4 カラムコンパートメントに付属品のカラムを取り付けます。

5 フロー セルを HPLC グレードの水で 5 min フラッシュします。

6 波長キャリブレーション、および該当する場合には強度テストを実行します。

7 『91 ページ 表 9』および『92 ページ 表 10』のリストに記載されているチェックアウト条件で、10 min システムを平衡化させます。

8 アイソクラティック標準試料のバイアルを準備します。

メソッドの設定

この節では、分析用のメソッドの条件を短時間で設定する方法を示します。

必須要件

デフォルトのメソッド［DEF_LC.M］は、新しいメソッドを準備するためにすでに読み込み済みです。この段階で主要なパラメータを編集して、新しいメソッドを作成できます。

1 各モジュールの **メソッド** ページにクイックアクセスするには、モジュールのシステムダイアグラム内を右クリックして、コンテキストメニューから **メソッド...** を選択します。

各モジュールをこの方法で設定します。

2 ポンプ領域を右クリックして、コンテキストメニューから［**メソッド...**］を選択します。（以下は一例です）

a ［1260 Infinity Binary Pump］の［**メソッド**］ページに、以下のパラメータを入力します。

- 流量： 4.0 ml/min
- 溶媒 A: 圧縮率のドロップダウンリストから、［**水**］を選択します。
- 溶媒 B: チェックボックスを選択し、溶媒 B をアクティブにします。
- %B の値を 60 % に設定します。
- ストップタイム： 1 min
- ポストタイム： 1 min

b 他のパラメータは、デフォルトの設定のままにします。OK をクリックしてウィンドウを終了します。

変更がポンプモジュールに送信されます。

3 オートサンプラ領域を右クリックして、コンテキストメニューから［**メソッド...**］を選択します。（以下は一例です）

a 1260 Infinity **オートサンプラ** の **メソッド** ページに、以下のパラメータを入力します。

- 注入量： 1.0 µl
- ニードル洗浄を用いた注入
- モードフラッシュポート、時間： 6 s

b 他のパラメータは、デフォルトの設定のままにします。OK をクリックしてウィンドウを終了します。

変更がオートサンプラモジュールに送信されます。

4 カラムコンパートメント（TCC）領域を右クリックして、コンテキストメニューから［**メソッド**...］を選択します。（以下は一例です）

a ［1290 Infinity TCC］の［**メソッド**］ページに、以下のパラメータを入力します。

- 温度（左）は 40 ° C
- 温度（右）は組み合わせ（左の温度と同じ設定になります）

b 他のパラメータは、デフォルトの設定のままにします。OK をクリックしてウィンドウを終了します。

変更が TCC モジュールに送信されます。

5 ダイオードアレイ検出器領域を右クリックして、コンテキストメニューから［**メソッド**...］を選択します。（以下は一例です）

a ［1260 Infinity DAD］の［**メソッド**］ページに、以下のパラメータを入力します。

- **使用シグナル**：チェックボックスのチェックを外して、［**シグナル A**］以外のすべてのシグナルをオフにします。
- シグナル A:254 nm、バンド幅 4 nm、基準 550 nm、バンド幅 100 nm
- ピーク幅： 0.02

b **詳細設定** セクションで、**スペクトル保存** に **全て** を設定します。

c 他のパラメータは、デフォルトの設定のままにします。OK をクリックしてウィンドウを終了します。

変更が DAD モジュールに送信されます。

6 この段階で、必要なモジュールパラメータのすべてが入力されました。［**メソッド**］>［**名前を付けてメソッド保存**］を選択し、ISO-1.M と入力してメソッドを新しい名前で保存します。

ChemStation では、メソッドを［DEF_LC.M］として保存することは許可されていません。したがって、デフォルトのメソッドテンプレートが変更されることはありません。

7 システムを少なくとも 10 min 平衡化させ、分析を開始する前に、**オンラインプロット**内のベースラインが安定化していることを確認します。

シングルラン用のメソッドの実行

この節では、前の節で入力した条件を使用して、アイソクラティック標準試料のシングル注入を実行する方法を示します。

ChemStation での分析は、次の 2 つのモードで実行できます。

- **ラン メソッド** – たとえば、対話型メソッド開発中のシングル注入。現在設定されているパラメータ設定を使用する。
- **シーケンス開始** – 複数のバイアルからの一連の注入を自動化。複数のメソッドを使う場合もある。詳細は、ChemStation のマニュアルを参照してください。

1 **ラン メソッド タスク選択** アイコン をクリックします。

2 必要なメソッド条件が現在読み込まれていない場合は、メニューバーの下にある **メソッド** > **メソッド読み込み** またはアイコン を選択し、それらを読み込みます。

注記

読み込んだメソッドを変更してまだ保存していない場合は、メソッドステータスアイコンに黄色のアスタリスクが付けられて、その状況が通知されます。変更されたパラメータを保存しなくても、注入は行えます。ChemStation は、取込パラメータのコピーをデータファイル ACQ.TXT に必ず保存します。そのため、オリジナルの取込パラメータが確実に維持されます。

3 サンプルバイアルをポジション 1 に置きます。ここが、サンプルトレイの右側の 10 x 2 ml のバイアルポジションの前面ポジションです。

4 **［ランコントロール］**>**［サンプル情報］**を選択して、必要なサンプルパラメータを入力します。

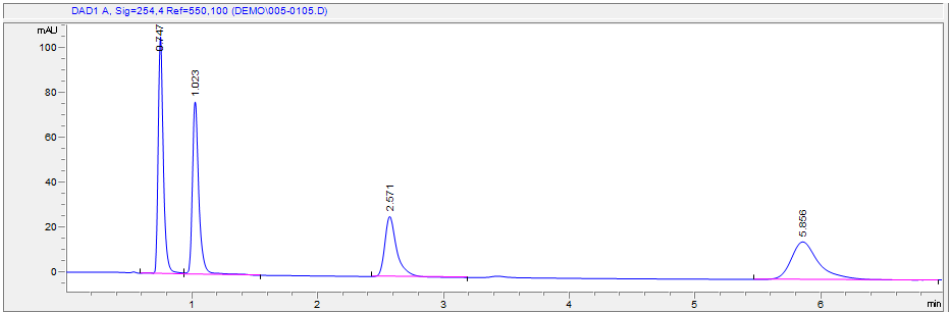
たとえば：

- **サブディレクトリ**（オプション）
- **名前のパターン**
- **バイアル / ロケーション**
- **サンプル名**
- **コメント**

5 システムの平衡化が完了していてベースラインが安定化していれば、[**サンプル情報**] ページ内の [**ランメソッド**] をクリックして、注入を開始します。あるいは [OK] をクリックし、準備ができたら [**ランコントロール**] > [**ランメソッド**] を選択します。[**ランキュー**] に項目が追加されて、自動的に開始されます。

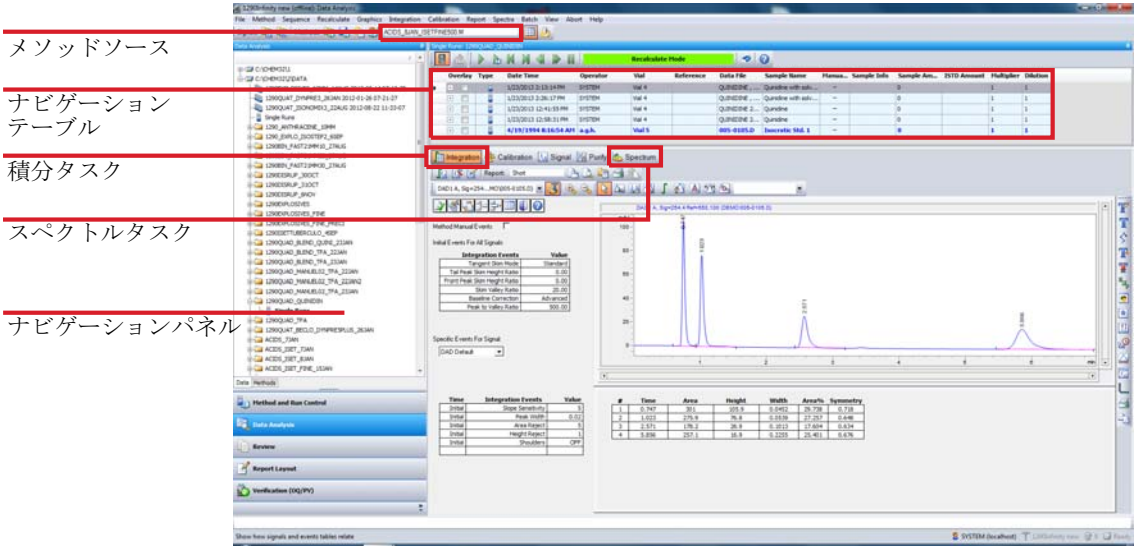
6 注入が行われて、[**オンラインプロット**] にクロマトグラムが表示されます。[**ストップタイム**] に到達すると、データ取込が停止します。

以下のようなクロマトグラムが表示されます。



データ分析

ChemStation 内のメソッドには、データ取込（システムの制御）用とデータ分析（定性的および定量的結果を取得するためのデータ処理）用のすべてのパラメータが含まれています。このセクションでは、データ分析の積分とレポートを概観し、この章の前半で生成された分離が積分されて出力される状況について説明します。定量分析のためのキャリブレーションの使用を含む、データ分析についての詳細は、ChemStation のマニュアルを参照してください。



データ分析ビュー

［データ分析］ビューにクロマトグラムを表示するには、以下の手順を実行します。

1 ChemStation をオフライン起動します。

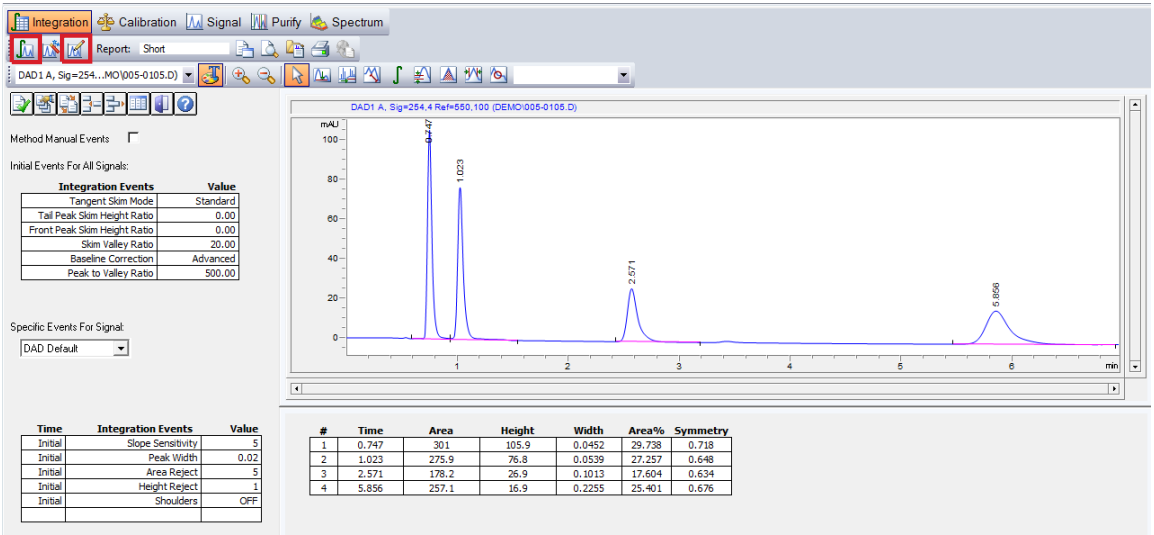
2 画面の左下にある［**データ分析**］をクリックします。

3 ナビゲーションパネルで、データファイルを含むデータディレクトリを探します。すべての単一注入が、**シングル ラン** のサブセットとして表示されます。**シングル ラン** をダブルクリックし、これらのデータファイルをナビゲーションテーブルに読み込みます。

4 ナビゲーションテーブル内のファイルを選択し、それをダブルクリックして、クロマトグラムをビューアに読み込みます。

シグナルの積分

1 ［積分タスクツール］を選択します（下図参照）。下図では、**［積分］**アイコンと **［積分イベント テーブル設定］**アイコンが強調表示されています。



2 **［積分イベント テーブル設定］**アイコン をクリックして、テーブルを図のように開きます。

3 グラジエント分析用に、**ベースライン補正** に **詳細設定** を設定します。

4 **［スロープ感度］**を 5 に設定します。

数字を大きくすれば、急なピークを積分し、緩やかなピークを無視します。

5 **［ピーク幅］**の値を、対象のピークの中で最も狭いピークに設定します。この例では、約 0.02 です。

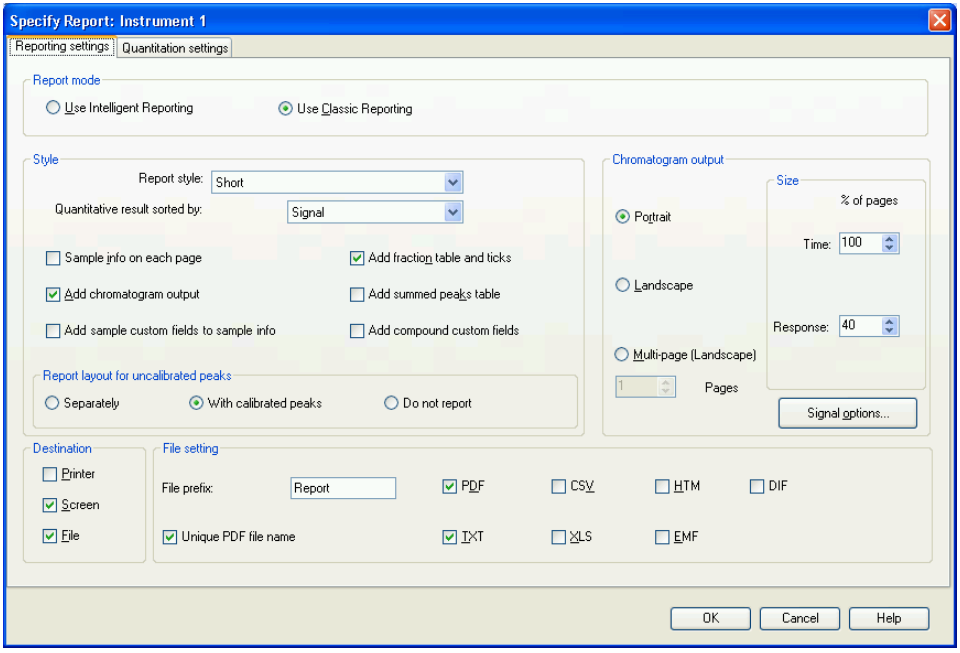
6 最小のピークをリジェクトするために、**面積リジェクト**と**高さリジェクト**を設定できます。

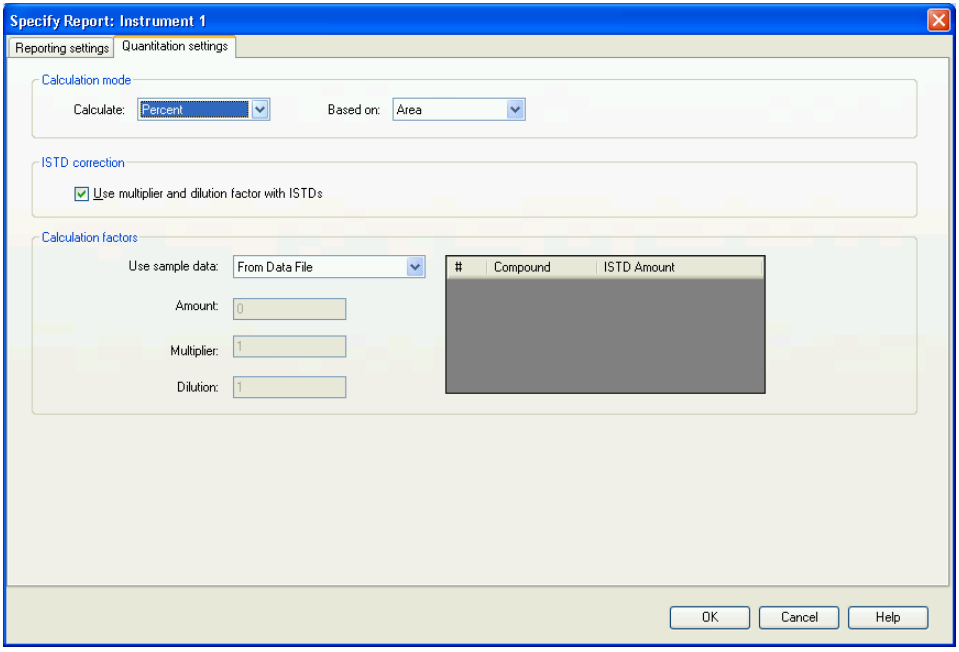
7 **［積分］**アイコン をクリックし、これらの新しい設定を用いて結果をアップデートします。

8 緑のチェックマークアイコン を使用して、**［積分イベント］**テーブルを終了します。

レポートの指定

1 メニューバーで **レポート** > **レポート条件** をクリックすると、下図に示すウィンドウが表示されます。





2 上図に示す設定例を使用すると、画面上に面積パーセントレポートを生成することができます。

3 **出力先** セクションで、用紙コピー用の **プリンタ** を選択し、**ファイル** と **PDF** を選択して、データファイル内に保存されている PDF レポートファイルを取得します（.D サフィックスのついたデータファイルは実際にはディレクトリです。レポートファイルは、ChemStation で直接表示させるか、あるいは通常の Windows File Explorer を使ってディレクトリ内で見つけることができます）。

4 メソッドを再び保存し、レポート設定をメソッドで将来確実に使えるようにします。

メソッドを次に使う場合は、これらの積分イベントとレポートの設定が使われて、レポートが生成されます。

これで、ChemStation ソフトウェアのデータ分析についての話題は終了します。ChemStation の強力な機能についての詳細は、ChemStation のマニュアルやオンラインヘルプシステムを参照してください。

6
付録

安全に関する情報 104
溶媒情報 107
材質情報 107
アジレントのウェブサイト 112
メソッド全体の編集を使用したメソッドの設定 113
メソッド情報 115
機器 / 測定条件 116
データ分析 132
ラン タイム チェックリスト 139

この章では、安全性、法律、ウェブ、およびメソッドの設定に関する追加情報を記載しています。

安全に関する情報

安全に関する一般的な情報

以下の安全に関する一般的な注意事項は、本機器の操作、サービス、および修理のすべての段階で遵守するようにしてください。以下の注意事項またはこのマニュアルの他の箇所に記載されている警告に従わないと、本機器の設計、製造、および意図された使用法に関する安全基準に違反することになります。使用者側による遵守事項からのかかる逸脱に起因する問題について Agilent は免責とさせて頂きます。

警告

装置の正しい使用法を確保してください。

機器により提供される保護が正常に機能しない可能性があります。

➔ この機器のオペレーターは、本マニュアルで指定した方法で機器を使用することをお勧めします。

安全規格

本製品は、国際安全基準に従って製造および試験された、安全クラス I 装置（アース端子付き）です。

操作

電源を投入する前に、設置方法が本書の説明に合っているかどうか確認してください。さらに、次の注意を守ってください。

操作中に装置のカバーを取り外さないでください。装置のスイッチを ON にする前に、すべての保護接地端子、延長コード、自動変圧器、および本装置に接続されている周辺機器を、接地コネクタを介して保護接地に接続してください。保護接地がどこかで途切れていると、感電によって人体に重大な危害を及ぼすことがあります。保護が正常に機能していないと思われる場合は、装置のスイッチを OFF にして、装置の操作を中止してください。

ヒューズを交換する際は、必ず指定したタイプ（普通溶断、タイムラグなど）と定格電流のヒューズだけを使用してください。修理したヒューズを使用したり、ヒューズホルダを短絡させたりしてはなりません。

本書で説明した調整作業には、装置に電源を入れた状態で、保護カバーを取り外して行うものがあります。その際に、危険な箇所に触れると、感電事故を起こす可能性があります。

機器に電圧をかけた状態で、カバーを開いて調整、メンテナンス、および修理を行うことは、できるだけ避けてください。どうしても必要な場合は、経験のある担当者が感電に十分に注意して実行するようにしてください。内部サービスまたは調整を行う際は、必ず応急手当てと蘇生術ができる人を同席させてください。メンテナンスを行うときは、必ず装置の電源を切って、電源プラグを抜いてください。

本装置は、可燃性ガスや有毒ガスが存在する環境で操作してはなりません。このような環境で電気装置を操作すると、引火や爆発の危険があります。

本装置に代替部品を取り付けたり、本装置を許可なく改造してはなりません。

本装置を電源から切り離しても、装置内のコンデンサはまだ充電されている可能性があります。本装置内には、人体に重大な危害を及ぼす高電圧が存在します。本装置の取り扱い、テスト、および調整の際は十分に注意してください。

特に、有毒または有害な溶媒を使用する場合は、試薬メーカーによる物質の取り扱いおよび安全データシートに記載された安全手順（保護眼鏡、安全手袋、および防護衣の着用など）に従ってください。

安全記号

表 11　安全記号

記号	説明
	危害のリスクを保護するために、そして装置を損傷から守るために、ユーザーが取扱説明書を参照する必要がある場合、装置にこの記号が付けられます。
	危険電圧を示します。
	アース（保護接地）端子を示します。
	本製品に使用されている重水素ランプの光を直接目で見ると、目をいためる危険があることを示しています。
	表面が高温の場合に、この記号が装置に付けられます。加熱されている場合はユーザーはその場所を触れないでください。

警告

警告は、

人身事故または死に至る状況を警告します。

➔ 指示された条件を十分に理解してそれらの条件を満たしてから、その先に進んでください。

注意

注意

データ損失や機器の損傷を引き起こす状況を警告します。

➔ 指示された条件を十分に理解してそれらの条件を満たしてから、その先に進んでください。

溶媒情報

溶媒を使用するときは、次の注意に従ってください。

- 藻も増殖を避けるための推奨事項に従ってください。ポンプのマニュアルを参照してください。
- 小さな粒子がキャピラリとバルブを永久的に詰まらせることがあります。そのため、0.4 µm フィルタで溶媒を必ず濾過してください。
- 流路内の部品の腐食の原因となる溶媒の使用は避けるか、最小限にしてください。フローセルやバルブ材などの異なる材質に対して示された pH 範囲に関する仕様や、以降の節の推奨事項を考慮してください。

材質情報

流路内の材質は、数十年かけて HPLC 分析用に高品質の設備を開発してきた Agilent 社の経験に基づき、注意深く選択されています。これらの材質は、標準の HPLC 条件下で優れた堅牢性を発揮します。特殊な条件については、材質情報セクションを参照するかまたは Agilent 社に連絡してください。

免責条項

次のデータは外部の情報源から収集したもので、参考としてお使いいただくためのものです。Agilent 社は、このような情報の完全性や正確性を保証することはできません。データは、適合性ライブラリに基づいており、それは UHPLC システム、溶媒、溶媒混合液、サンプルの、特殊であっても非常に多様な条件下での長期間の寿命を推定するために固有のものではありません。情報は、金属イオン、錯化剤、酸素などのような不純物の触媒効果により、一般化できません。純粋化合物の腐食以外に、電食、静電気的変化（特に非伝導性有機溶媒）、ポリマの膨張など他の影響も考慮する必要があります。得られたデータの大部分は室温（通常 20 – 25 ° C、68 – 77 ° F）に言及しています。腐食の可能性がある場合、温度が上昇すると一般に腐食が加速します。疑わしいときは、材料の化学的適合性についての技術文献を参照してください。

PEEK

PEEK （ポリエーテル－エーテル ケトン）は、耐薬品性、機械的安定性、熱安定性に関して優れた特性を併せ持っています。 pH1 ～ 12.5 の範囲で安定であり、一般的溶媒の多くに対し不活性です。次のような化合物との不適合性についてもいくらか知られています。クロロホルム、塩化メチレン、THF、DMSO > 1 %、強酸（硝酸 > 10 %、硫酸 > 10 %、トリクロロ酢酸、スルホン酸）、ハロゲン、または含水ハロゲン溶液、フェノール、誘導体（クレゾール、サリチル酸など）。室温を超える状態で使用すると、PEEK は塩基やさまざまな有機溶媒に反応し、膨張を引き起こすことがあります。

ポリイミド

Agilent 社は、バルブ内のロータシールとオート サンプラのニードルシートに、半結晶性ポリイミドを使用しています。ポリイミドの供給元のひとつとして DuPont 社があり、そのブランド名は Vespel で、Agilent 社でも使用されています。

ポリイミドは、ほとんどの有機溶媒で、pH1 ～ 10 の 範囲で安定です。濃縮鉱酸（例、硫酸）、氷酢酸、DMSO、THF とは適合しません。アンモニア（例、塩基性条件下でのアンモニウム塩）のような求核性物質または酢酸によって分解します。

ポリエチレン（PE）

Agilent 社は、1290 Infinity ポンプで使用される黄色のピストンとウォッシュ用シール用に、そして 1260 Infinity ポンプの順相アプリケーション用に、UHMW （超高分子量）-PE/PTFE 混合物を使用しています。

ポリエチレンは、pH1 ～ 12.5 の 範囲の酸と塩基を含め、大抵の一般的無機溶媒に対し、高い安定性をもちます。メタノール、アセトニトリル、イソプロパノールなど、クロマトグラフシステムで使用される多くの有機溶媒に適合します。脂肪族、芳香族、ハロゲン化炭化水素、THF、フェノールや誘導体、濃酸と濃塩基とでは、安定性が限定されます。順相アプリケーションに対しては、最大圧力は 200 bar に限定されます。

タンタル（Ta）

タンタルは、大抵の一般的 HPLC 溶媒と、無水フッ酸と三酸化硫黄をもつ酸を除くほぼ全ての酸に対して不活性です。強塩基（例、水酸化物溶液 >

10 %、ジエチルアミン）により腐食します。無水フッ酸やフッ化物との使用は推奨されません。

ステンレススチール（SST）

ステンレススチールは多くの一般的な溶媒に対して不活性です。1 から 12.5 の pH 範囲の酸や塩基の存在下では安定です。pH 2.3 より低い酸により腐食することがあります。以下の溶媒によっても腐食することがあります。

- ハロゲン化アルカリ化合物およびその酸溶液（例、ヨウ化リチウム、塩化カリウムなど）と、ハロゲン化物の水溶液。
- 硝酸、硫酸などの高濃度の無機酸、特に高温の有機溶媒（クロマトグラフィーメソッド上可能であれば、ステンレスに対する腐食性の低いリン酸またはリン酸緩衝液に変更して下さい）。
- 以下に示すラジカルまたは酸、あるいはその両方を発生するハロゲン化溶媒または混合液。

  $2\ CHCl_3 + O_2 \rightarrow 2\ COCl_2 + 2\ HCl$

  乾燥プロセスによって安定剤のアルコールが除去された場合、通常はステンレスを触媒として、乾燥クロロホルムでこの反応が急速に発生します。
- 過酸化物（THF、ジオキサン、ジイソプロピルエーテルなど）を含む可能性がある、クロマトグラフクラスのエーテル。このようなエーテルは、過酸化物を吸着する乾性アルミニウム酸化物を使用して濾過してください。
- 有機溶媒中の有機酸溶液（酢酸、ギ酸など）。例えば、酢酸 1 % のメタノール溶液は鋼鉄を腐食します。
- 強力なキレート試薬（EDTA、エチレンジアミン 4 酢酸など）を含む溶液。
- 四塩化炭素と 2-プロパノールまたは THF の混合溶液。

ダイアモンド様炭素（DLC）

ダイアモンド様炭素は、ほぼ全ての一般的な酸、塩基および溶媒に対して不活性です。HPLC アプリケーションに対する不適合は報告されていません。

フューズドシリカとクォーツ（SiO_2）

フューズドシリカは、1290 Infinity フロー セルとキャピラリに使用されています。クォーツは、旧モデルのフローセル窓用に使用されています。フッ化水素酸とフッ化物を含む酸性溶媒を除く全ての溶媒に対し、不活性です。強塩基によって腐食するため、室温で pH 12 を超える状態で使用しないでください。フローセル窓が腐食すると、測定結果に悪影響を及ぼすことがあります。pH が 12 を超える場合、サファイアウィンドウ付きのフロー セルを使用することを推奨します。

金

金は指定の pH 範囲内では、一般的な全ての HPLC 溶媒、酸および塩基に対して不活性です。錯化性シアン化物や王水のような濃酸により腐食することがあります。

ジルコニア 酸化物（ZrO_2）

ジルコニア酸化物は、ほぼ全ての一般的な酸、塩基および溶媒に対して不活性です。HPLC アプリケーションに対する不適合は報告されていません。

プラチナ / イリジウム

プラチナ / イリジウムは、ほとんどすべての一般的な酸、塩基および溶媒に対して不活性です。HPLC アプリケーションに対する不適合は報告されていません。

フッ素化ポリマ（PTFE、PFA、FEP、FFKM）

PTFE（ポリテトラフルオロエチレン）、PFA（パーフルオロアルコキシ）、FEP（フッ素化エチレン プロピレン）などのフッ素化ポリマは、ほぼ全ての一般的な酸、塩基、溶媒に対し不活性です。過フッ素化ラバーである FFKM も、ほとんどの化学物質に対して耐性を示します。エラストマであることから、ハロゲン化炭化水素などの有機溶媒中で膨張することがあります。

TFE/PDD 共重合体チューブは、G1322A を除くすべての Agilent デガッサに使用されており、フレオン、フロリナート、バートレルなどのフッ素化溶媒には適合しません。ヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP）の存在下では、これらのチューブの寿命が制限を受けます。HFIP を使用する場合に寿命をできるだけ延ばすための最善策は、特定のチャンバをこの溶媒専

用にして溶媒を切り替えないようにし、チャンバを乾燥させないようにすることです。圧力センサの最適な寿命が得られるように、ユニットをオフにしているときはチャンバ内に HFIP を残さないでください。

サファイア、ルビー、Al_2O_3- ベースのセラミック製

サファイア、ルビー、アルミニウム酸化物 Al_2O_3 ベースのセラミック製は、ほぼ全ての一般的な酸、塩基、溶媒に対し不活性です。HPLC アプリケーションに対する不適合は報告されていません。

アジレントのウェブサイト

製品およびサービスの最新情報を知るには、以下のアジレントのウェブサイトにアクセスしてください。

http://www.agilent.com

メソッド全体の編集を使用したメソッドの設定

ChemStation 内のメソッドには、データ取得（システムの制御）用とデータ分析（定性的定量的結果を取得するためのデータ処理）用のすべてのパラメータが含まれています。これらのパラメータには、一連の画面を通じてアクセスできますが、各画面で重点を置いているのは、1 つのモジュールまたは機能だけです。これらの画面には、グラフィックユーザーインタフェース（GUI）のアイコンをクリックするか、メニューバーのドロップダウンメニューを使ってアクセスします。新しいメソッドは、既存のメソッドまたはブランクのテンプレートメソッド DEF_LC.M を読み込んで編集することにより、作成できます。

変更するパラメータの数が少ない場合は、変更対象のパラメータの関連設定ページに直接アクセスします。慣れていないユーザーの場合は、**メソッド全体の編集**機能を使う方が簡単です。この機能を使うと、各ページに自動的にアクセスします。この機能にはメニュー**メソッド** > **メソッド全体の編集**を使ってアクセスします。すると、ダイアログ**編集するメソッド項目を選択してください**が表示されます。

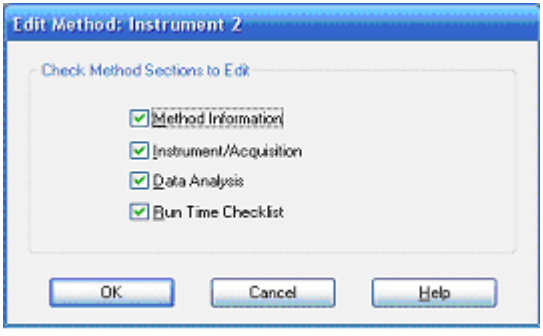


図 23　編集するメソッド項目を選択してください

このダイアログには、表示される項目がまとめられており、選択しなかった項目はバイパスできます。

選択した項目に応じて、複数の画面が順番に表示されます。

- **メソッド情報**は、メソッドに関する説明文で構成されます。
- **機器 / 測定条件**は、以下の項目で構成されます。
  - インジェクタパラメータ
  - ポンプパラメータ
  - オーブンパラメータ
  - 検出器パラメータ
  - 機器曲線
- **データ分析**は、以下の項目で構成されます。
  - シグナル詳細
  - 積分パラメータ
  - レポートパラメータ
- **ラン タイム チェックリスト** は実行するメソッドの一部を構成します。

注記

メソッド全体の編集を実行中に、OK をクリックすると、現在の入力画面が閉じて、次の画面に移動します。これは、一方向プロセスです。

すべてのエントリに入力しないうちに不用意に OK を押した場合は、**キャンセル** を押して **メソッド全体の編集** を再起動する必要があります。あるいは作業を続けていき、最後に未記入の画面に戻るようにします。**キャンセル** をクリックすると、残りの画面を **スキップ** するためのボタンが表示されます。

メソッド情報

メソッド情報 画面も、メニュー **メソッド** > **メソッド情報** から直接、またはグラフィカルユーザーインタフェースで右クリックすることでアクセスできます。

このボックスには、入力したメソッドについての情報が表示されます。この情報は、メソッドを読み込んでメモリーに常駐させたときに、**メソッド & ランコントロール** 画面のシステムダイアグラムの上に表示されます。

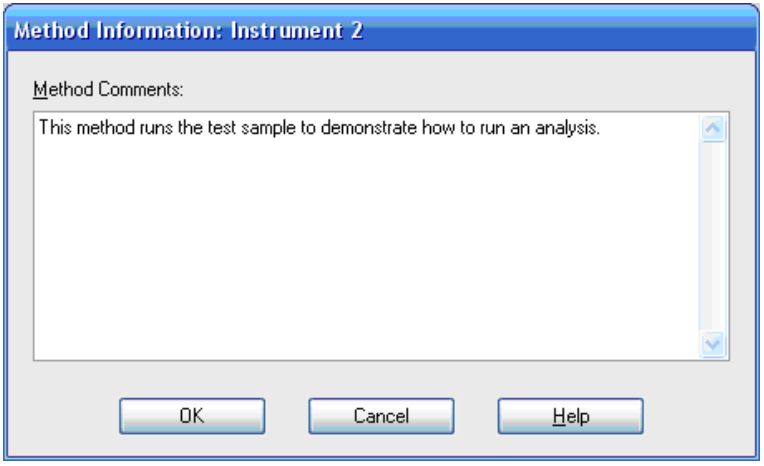


図 24 メソッド情報

機器 / 測定条件

機器メソッドの設定

メソッド セットアップ 画面は、メニュー **機器** > **機器メソッドの設定** から直接、または任意のモジュールアイコン上のグラフィカルユーザーインタフェースで右クリックし、コンテキストメニュー内の **メソッド** を選択することでアクセスできます。**メソッド全体の編集** の次の段階は、**メソッド セットアップ** 画面です。この画面には、異なるモジュールまたは機能のために、6 つのタブが用意されています。

以下のタブがあります。

- 高速オートサンプラ (HiP-ALS)
- **HiP-ALS インジェクタプログラム**
- バイナリポンプ (BinPump)
- 温度調節機能付きカラムコンパートメント (TCC)
- ダイオードアレイ検出器 (DAD)
- **機器カーブ**

タブ間を移動するには、画面上部のタブ名をクリックします。パラメータを変更すると、**適用** をクリックした場合は即座に機器に送信され、すべてのタブに記入して、OK をクリックした場合はすべてのパラメータがモジュールに送信されます。そして、画面を閉じて、次の段階に移動します。

アジレントには、機器モジュールに対するコモン RC.Net ドライバというコンセプトがあります。そのため、パラメータの入力タブは、すべてのコントロールプログラム (ChemStation、EZChrom、MassHunter など) で似ています。

例題の分離を実行するには、大部分のメソッドと同様に、必ずしもすべてのパラメータを変更する必要はありませんが、完全性を期するために、以降の項で説明しておきます。

オートサンプラタブ

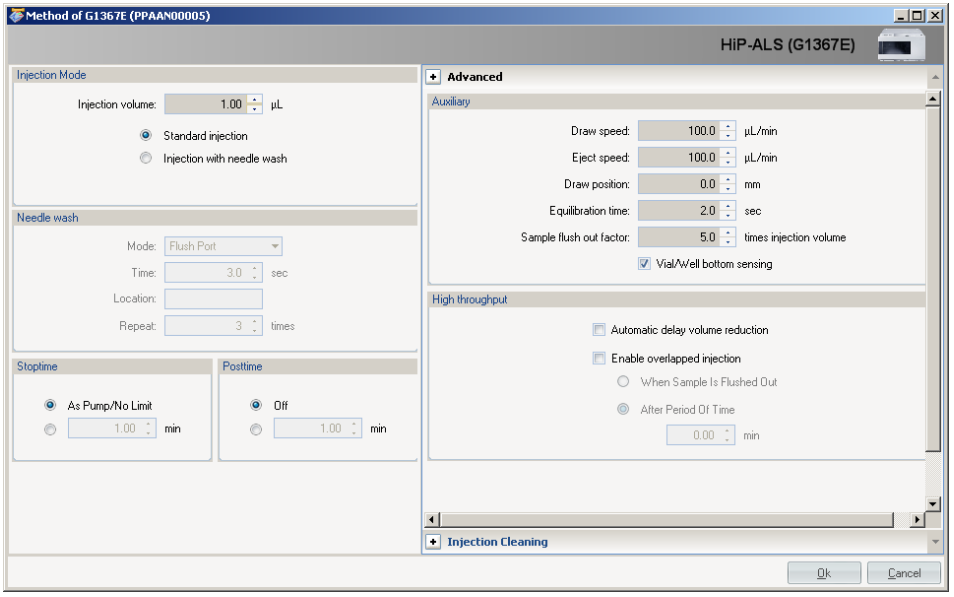


図 25 ［メソッド セットアップ］画面 -［ハイパフォーマンスサンプラ］タブ

- **注入モード**
  - ［**注入量**］は、注入されるボリュームを設定します（例：1 µl）。
  - **標準注入** は、外部ニードル洗浄は行われていないことを示します。
  - **ニードル洗浄 + 注入** は、潜在的キャリーオーバを低減する場合に使います。これは推奨オプションであり、次のエントリで構成します。
- **ニードル洗浄** は、上記で選択した場合です。
  - **モード** は、ニードル外部を洗い流す方法を指定します。**フラッシュポート** で強力に洗い流すか、指定した **洗浄バイアル** に浸します。
  - フラッシュポートに接続されているペリスタルポンプが、洗浄溶媒を送り出す **時間** を秒単位で指定します。ペリスタルポンプは、フラッシュポートを洗浄するために、さらに 15 s 送り出します。
  - **ロケーション** は、**洗浄バイアル** を選択している場合に、バイアルまたはウェルプレートのいずれを使うのかを指定します。

注記 セプタムを持つバイアルは使えません。すなわち、セプタム上のキャリーオーバ剤が輸送されることを回避するために、オープンである必要があります。

- **繰り返し** は、洗浄バイアルを選択している場合に、ニードルをバイアルに浸す回数を指定します（デフォルトは 3、最大で 5)。

- **ストップタイム/ポストタイム** には **無制限/オフ** が設定されますが、ポンプタブではこれらの値は慎重に取り扱う必要があります。
- **詳細設定 – 補助設定**
  - **吸引速度** は、サンプルがニードルに吸い込まれる速度です。デフォルト値は、100 µl/min です。粘性のあるサンプルの場合は、少ないサンプル量（<2 µL）でも十分な精度を確保するために速度を落とす必要があります。
  - **吐出速度** は、ニードルから吐き出す速度です。
  - **吸引ポジション** は、バイアル底部の上の標準注入ポジション 10 mm からの垂直オフセットです。これは 2 ml バイアルの約半分なので、サンプルをバイアル底部近くから取り出すには負のオフセットが必要になります。たとえば、値 -7 mm を指定すれば、ニードル 3 mm のチップがバイアル底部の上に配置されます。
  - **平衡化時間** は、サンプルを吸い込んでからニードルを移動させるまでの間のディレイタイムです。
  - **サンプルフラッシュアウト係数** は、注入後にバルブがバイパスに切り替わるまでオートサンプラが待機する時間を決定します。この係数によって、ニードル、シート、注入バルブを使ってサンプルゾーンから汚れが取り除かれることが保証されます。デフォルト値は 5 です。
  - **バイアル / ウェル底部センサ**は、吸引ポジションのオフセットの使用の代替です。ニードルは、バイアルまたはウェルの底部に接触するまでゆっくりと下降し、その後 1 mm だけ上昇します。これは、ニードルをバイアル底部に近付けることを保証するための優れた方法ですが、注入の完了までに時間がかかることと、バイアル底部に粒子状物質がある場合はニードルを詰まらせる可能性があるため、ニードルが使えなくなるという欠点を持ちます。

- **詳細設定 – ハイスループット**
  - **自動バルブ切り替え**（ADVR）は、注入が完了し、サンプルフラッシュアウト係数で定義されたボリュームがインジェクタを通過した後に、注入バルブをメインパスからバイパスへ切り換えます。この係数によって、システムディレイボリュームは 70 µl ほど削減され、グラジエント変更がカラムに到達する時間が短縮されます。
  - **オーバーラップ インジェクション** も、サンプルがインジェクタからフラッシュアウトされた後か、または分析中に指定されてている時間が経過した後のいずれかの時点で、注入が完了すれば、注入バルブをメインパスからバイパスへ切り換えます。インジェクタは次回の注入に備えるために次のサンプルを吸引するので、サイクルタイム全体を短縮し、サンプル処理数を増加させます。
- **注入バルブクリーニング**
  - **インジェクタクリーニング** を使うと、注入システムを溶媒でフラッシュできます。
  - **注入バルブクリーニング** を使うと、対象化合物が注入されたときにキャリーオーバを最小にするため、分析中の設定値でバルブを切り換えられます。

ハイパフォーマンスサンプラ (HiP-ALS インジェクタプログラム) タブ

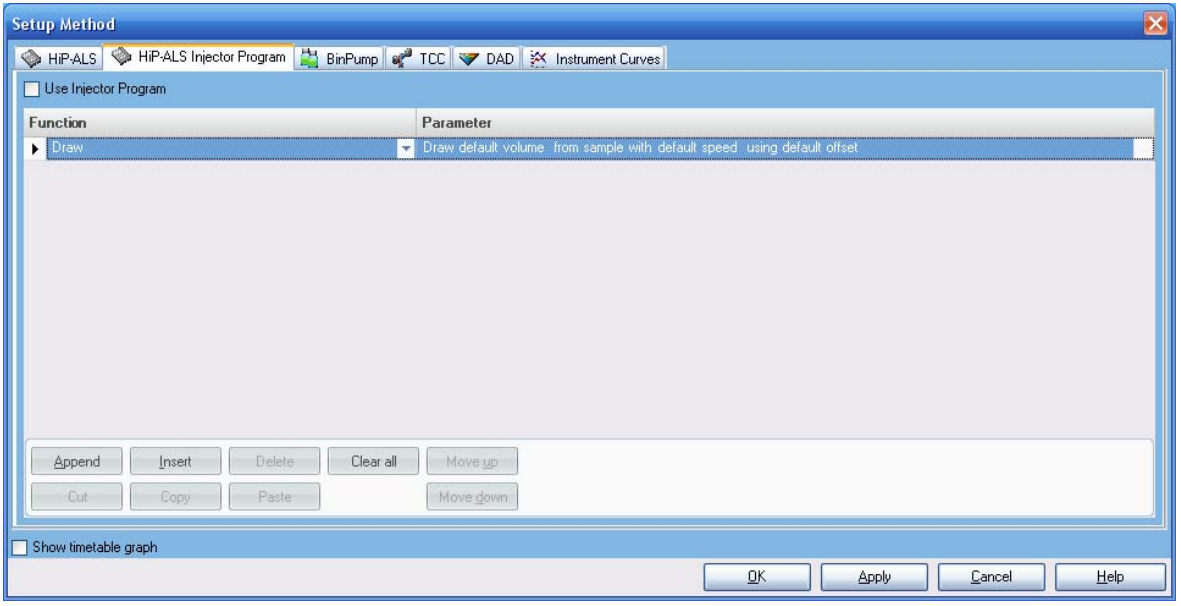


図 26　[メソッド セットアップ] 画面 - [HiP サンプラ インジェクタ プログラム] タブ

これを使用すると、たとえば、プレカラム誘導体のような複数のバイアルのアリコートの操作を含む、特殊な注入手順を作成できます。検出機能または感度を向上させるために、サンプルには試薬が自動的に混合されます。よく使われる例は、OPA および FMOC 試薬を用いるアミノ酸誘導体です。詳細は、『Agilent 1260 Infinity ハイパフォーマンスサンプラマニュアル』を参照してください。

バイナリポンプタブ

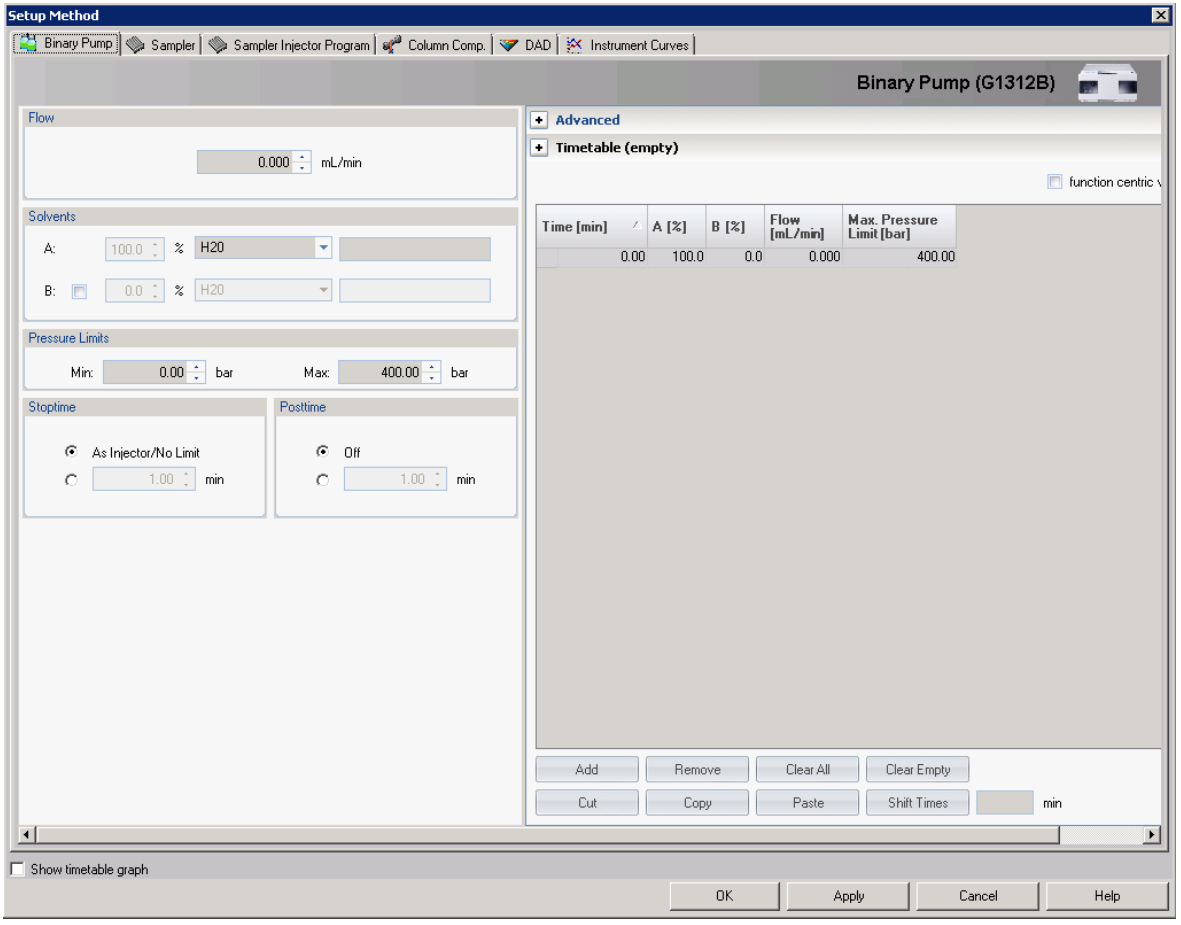


図 27　［メソッドセットアップ］画面 -［バイナリポンプ］タブ

- ［**流量**］には、最大で 5 mL/min の流量が設定されます。たとえば、分離 4 mL/min が使用されます。背圧が最大圧力設定値に簡単に到達すれば、流量は数秒間で減少して圧力を低下させます。圧力がこの方法で制限され続けると、エラー状態が生成されて流れが停止します。

- [**溶媒**] は、利用可能な移動相と 2 つのチャンネル A と B に送り出す割合を定義します。各チャンネルのドロップダウンボックスを使用すればリストから溶媒を選択できるため、ポンプコントロールで最適の圧縮率設定を使えるようになります。これにより、『「内径が 2.1 mm のカラムの最適な機器コンフィグレーション」43 ページ』で説明したように、フロー特性を最適化できます。2 番目のテキストボックスには、入力する移動相についての説明を記述します。ポンプに溶媒切り替えバルブが取り付けられている場合は、各チャンネルは 2 つの溶媒オプションを持つことになり、溶媒種類の左にあるラジオ ボタンを使用してメソッドに適したオプションを選択できます。ポンプは指定された A および B チャンネル（たとえば、A2 と B1）のバイナリ混合を行います。A1 と A2 または B1 と B2 の混合は許されていません。A と B の割合として入力される値は、アイソクラティックメソッドの混合、またはグラジエントメソッドの開始条件とグラジエント分析間の平衡化条件を定義します。値は B についてのみ入力します。カーソルを移動させると、A に 100 % - B の値が自動的に入力されます。例題の分離では、A には水、B にはメタノールを 60 % の割合で設定します。A は 40 % になります。
- **タイムテーブル** には、移動相内の A と B の混合の割合、または、必要に応じて、許される流量と最大圧力を使って、分析中に生ずる変化の詳細が設定されます。タイムテーブルは、指定した設定値間でパラメータをリニアに変化させます。この画面の別の場所で指定する設定は初期条件として使用され、変更されるのは、タイムテーブルにエントリを作成したときだけです。たとえば、分析中は流量が一定ならば、タイムテーブルに流量に関するエントリを作成する必要はありません。タイムテーブルにエントリを作成するには、次の手順を実行します。まず、[**追加**] ボタンをクリックしてタイムテーブルに行を追加します。設定値の時間を入力します。ドロップダウンリスト（混合、流量、圧力）からエントリのタイプを選択します。そして [**パラメータ**] ボックスをクリックして、値のエントリボックスを表示します。タイムテーブルのエントリを論理シーケンスで作成した場合は、各エントリは時刻に従って自動的に順番が並べ替えられます。タイムテーブルの行は直接編集できます。また行の追加と削除には、[**切り取り**]、[**貼り付け**]、[**削除**] などのボタンを使用できます。グラジエントプロファイルを作成するために、一連のリニアグラジエントセグメントを指定するための複数の行を追加できます。単純なグラジエントを設定するには、まず、すでに空になっていなければ [**全消去**] ボタンを使用してタイムテーブルをクリアし、行を追加して、時間と必要な溶媒組成を入力します。ステップグラジエントが必要な場合は、2 つのエントリ「before step」と「after step」の設定（0.01 min で区切る）を追加することで作成できます。これは、

分析の最終段階で、ステップ グラジエント内で強力な溶媒や流量を増やす（たとえば、% B を 75 % から 95 % にステップアップする）ことによって、強力に保留されているピークを短時間でカラムから溶出させる場合によく使用されます。タイムテーブル内に時間設定 0.00 min を入力する必要はありません。この値は、この画面の別の設定値から持ってこられます。ただし、タイムテーブル内の完全なリストを表示させる場合は、0.00 min のエントリを作成します。これについては何の問題もありませんが、初期状態が変更された場合は、新しい設定をタイムテーブルと、画面の［**溶媒**］セクションの設定値の両方に入力する必要が生じます。

- **タイムテーブルグラフの表示** は、ボックスにチェックが付けられた場合は、タイムテーブルの変化をグラフで表示します。
- ［**ストップタイム**］は、分離または分析の全体の時間を定義します。「実行時間」と呼ばれることもあります。これは、注入が行われてから分析が終了する（つまり、データ取込は停止し、フロー、混合、その他のシステム設定はメソッドの初期値に戻され、システムは次の注入に備えて準備が終わる）までを分単位でカウントする時間です。この値は、タイムテーブルの最後のエントリの値以上である必要があります。そうしないと、タイムテーブルイベントが完了する前に、分析が停止して開始条件に戻ってしまいます。**ストップタイム** には **無制限** を設定できます。この場合は、分析を手操作で停止する必要があります。すべてのシステムモジュールは［**ストップタイム**］パラメータを備えていますが、ポンプの［**ストップタイム**］がマスタと見なされます。そのため、他のモジュールは通常、この値に従って設定されます。
- **ポストタイム** は分析終了後のカウントダウン時間を定義します。この時間内は次の注入が禁止されます。これは、システムがグラジエント分析後に再平衡化するための時間です。アイソクラティックメソッドの場合は、**オフ** を設定します。グラジエントメソッドの場合は、ベースライン処理を観察することによって実験的に値を決定できますが、通常はシステムのディレイボリュームに、システムでフラッシュされるカラムボリュームを少なくとも 3 ～ 5 つ加えた時間が必要になります。
- **圧力リミット** は、ポンプの圧力の動きを制御します。1260 Infinity バイナリポンプの最大圧力は 600 bar ですが、低圧にしか耐えられないカラムもあるため、ここで値を定義することでカラムを保護します。この圧力を超えると、ポンプはエラー状態を生成します。実行中のすべての測定が停止し、フローが無くなってポンプがスタンバイモードに切り換わります。特定のカラムの最大圧力についての情報は、カラムに付属しています。Agilent ZORBAX RRHT カラムは、600 bar での運用に適して

います。低圧リミットは値がゼロの場合はオフですが、それ以外の値の場合は、運用中に圧力がこの値を下回るとポンプでエラーが生成されます。これは、カラムがリーク センサを持つモジュールに含まれない場合、またはシステムが乾燥している場合の代替の安全策として使われます。最小圧力リミットの値は、10 ～ 20 bar が標準的です。

カラム コンパートメント（TCC）タブ

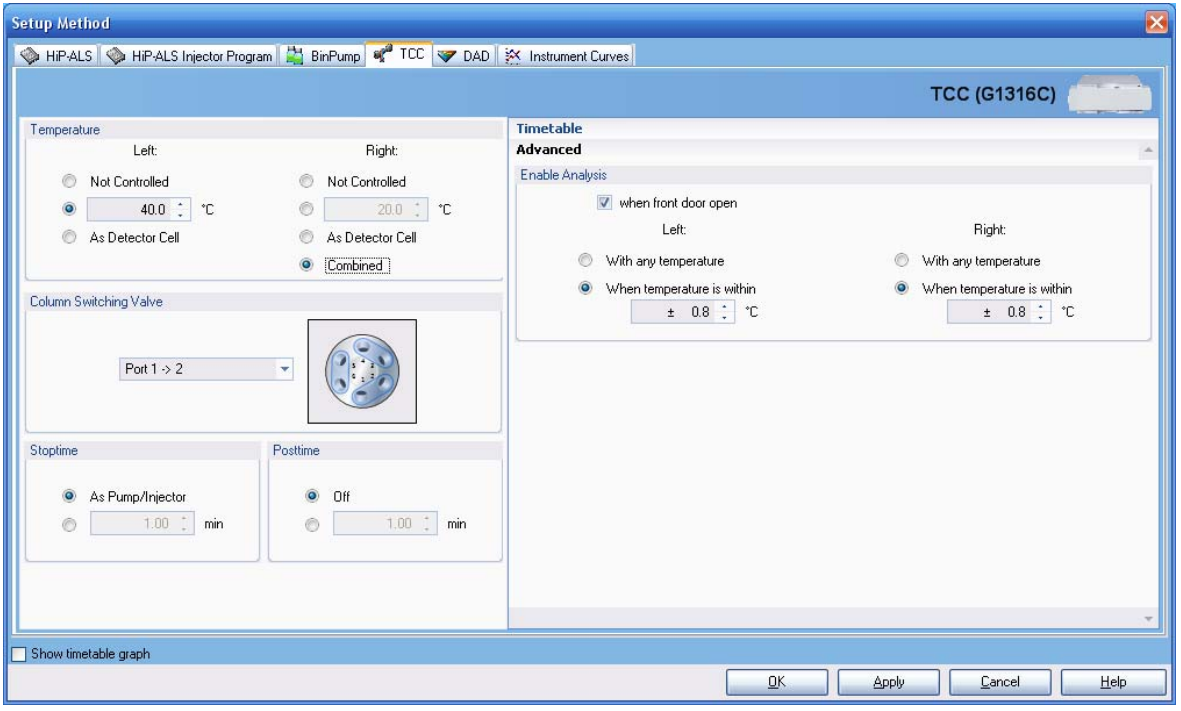


図 28 ［メソッド セットアップ］画面 -［カラムコンパートメント］タブ

- ［**温度**］は、左側と右側のカラムホルダの温度を定義します。独立に制御することも、［**結合**］ラジオ ボタンをオンにして同時に制御することも可能です。結合した場合は、左側の設定によって両方のセクションが制御されます。これが必ず必要になるのは、カラムが 15 cm よりも長く、両方のセクションによるサポートが必要な場合です。2 つのカラムが異なる温度で動作する必要がある場合は、両側を独立に運用できます。このような状況は、カラムを切り替えるためにカラムスイッチングバルブが実装されている場合に発生します。独立した温度ゾーンを使用する別の例としては、一方のサイドではカラムが高温（たとえば、60 ° C 以上）で動作しており、他のサイドではフロー セル内の温度効果が原因のノイズを減らすために、熱交換器を使用して検出器に渡す前の溶離液を冷却している場合です。［**検出器セルと同じ**］オプションを選択すると、自動的に検出器内のセルから温度が読み取られます。

各ゾーンの温度は -5 ° C ～ 100 ° C の範囲で設定できますが、カラムがその温度で動作可能なことを確認しておく必要があります。(範囲の上端では、Agilent ZORBAX RRHT StableBond 相が使えます。) 低い方は周囲温度 - 10 ° C まで ± 0.15 ° C の精度で温度が制御されますが、12 ～ 15 ° C 以下の温度で動作するアプリケーションはほとんどないことに注意してください。このような低温での TCC の使用は、湿気を含んだ空気が凝縮して水になりリーク センサをトリガするため避けてください。

- [**カラムスイッチングバルブ**] は、バルブがカラムホルダに適合する場合だけアクティブになるオプションです。次の 3 種類のバルブが用意されています。
  - 2 ポジション 6 ポート - 2 カラム間を切り替えるために使用
  - 2 ポジション 10 ポート - カラム再生を切り替えるために使用
  - 8 ポジション 9 ポート - MDS 内で複数のカラムを選択するために使用

ダイオードアレイ検出器タブ

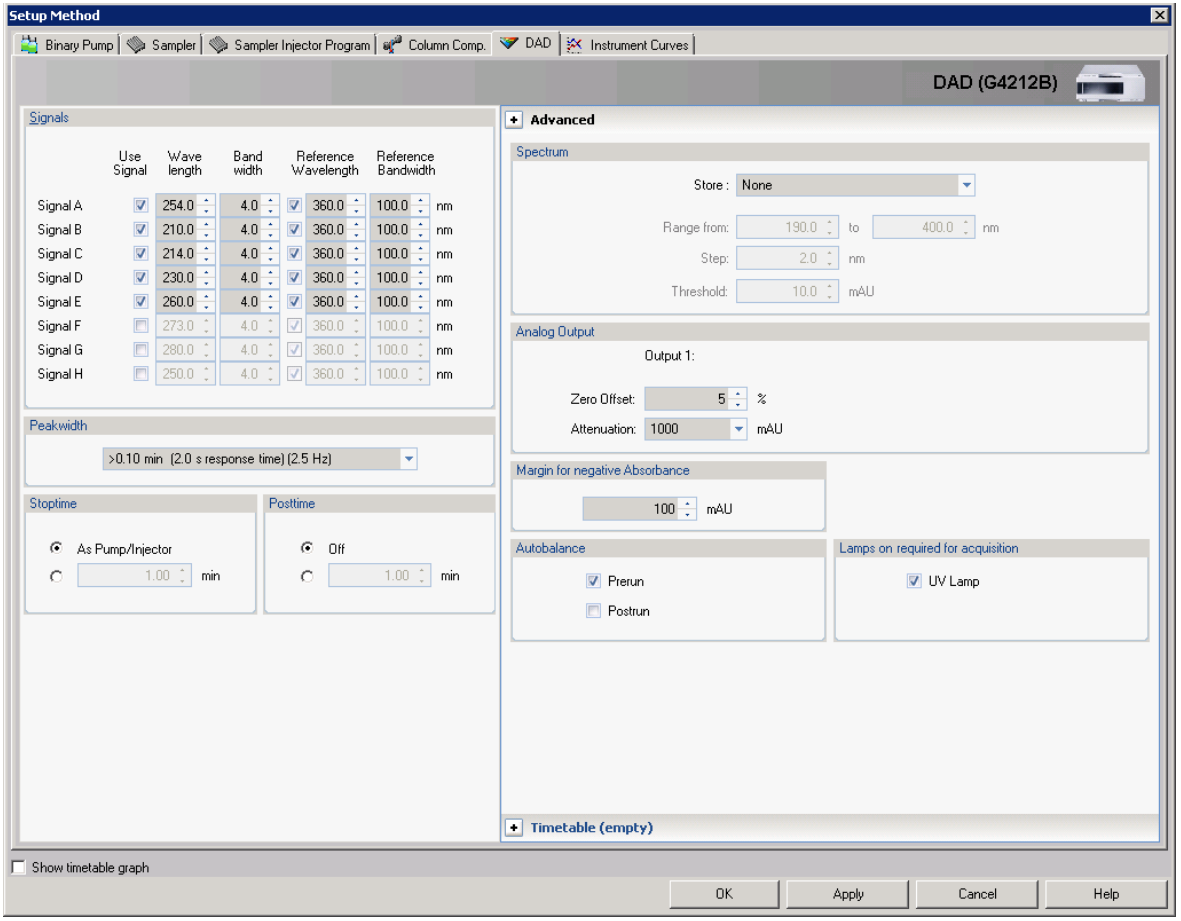


図 29 ［メソッドセットアップ］画面 -［ダイオードアレイ検出器］タブ

- ［シグナル］: 最大で 8 つの独立したシグナル（クロマトグラム）を記録できます。シグナルに収集のマークを付けるには、そのシグナルに対応した［使用するシグナル］ボックスにチェックを付け、波長とバンド幅を定義し、リファレンス シグナルが必要な場合にはそのボックスにもチェックを付けて定義します。
  - ［波長］には、シグナルの中心波長（nm）を設定します。
  - ［バンド幅］には、シグナルの幅（nm）を設定します。

- [リファレンス波長] には、分析シグナルから抽出したリファレンスバンドの中心波長（nm）を設定します。
- [リファレンスバンド幅] には、リファレンスバンドの幅（nm）を設定します。

- [ピーク幅] には、データ取込レートとシグナルフィルタリングを設定します。
- [ストップタイム] / [ポストタイム] は、[ポンプ/インジェクタに同期] または [オフ] に設定されます。これらの値は通常、[ポンプ] タブで取り扱われます。ただし、ポンプで定義された分析の終了よりも前にデータ分析を停止する必要がある場合は、検出器のストップタイムをポンプのストップタイムとは異なる値に設定できます。グラジエントの終了時にグラジエント平衡化ランプが設定される場合がこれに相当します。たとえば、%B が 10 min 分後に 95 % まで上昇し、その間にすべてのピークがカラムから溶出するとします。この場合、分析は本質的には終了していますが、エクストラグラジエントセグメントが追加されているため、%B は 2 分間にわたって初期値に後退します。この間にカラムの再平衡化がなだらかに開始されます。この下方ランプでは有益なデータは期待できないため、検出器のストップタイムには 10 min を設定しデータ収集を停止します。一方、ポンプのストップタイムには 12 min を設定して下方ランプが完了するのを待ちます。またユーザーによっては、検出器にだけ異なるストップタイムを設定するのが煩わしいため、クロマトグラムの最後の数分には有用なデータを含められないことを納得した上で、そのまま記録させることを選択する場合もあります。検出器のストップタイムは、他のモジュールの早期のストップタイムと同様に、ポンプのストップタイムには影響を与えずに、分析を終了させます。そのため、ストップタイムに [ポンプ / インジェクタに同期] という設定が用意されています。
- [タイムテーブル] は、他のモジュールと同様に操作します。すなわち、行を追加し、変更する機能を選択し、その機能に新しい値を設定します。検出器の変更は、指定に伴って直ちに行われます。以下の機能は、分析中に変更できます。
  - バランス
  - シグナル変更
  - 閾値変更
  - ピーク変更 – 検出器のピーク幅

- スペクトル測定モードの変更
- 接点の変更

- ［詳細設定］–［スペクトル］

  スペクトルは、分析中に、連続的またはピーク制御ベースで保存されます（これは ChemStation ソフトウェアの場合です。たとえば、EZChrom のようなソフトウェアは、すべてのスペクトルについて連続的な収集しかサポートしていないため、ピーク制御オプションは表示されません）。スペクトル収集とシグナル収集は、検出器のファームウェアが実行する独立した操作であり、コンピュータのソフトウェアが 3D データマトリックスから抽出するデータとは無関係です。スペクトルを収集するレートは、［**ピーク幅**］の設定で指定します。［**ピーク幅**］で指定した時間内に 8 つのスペクトルが収集されます。ピーク制御スペクトルを保存する場合は、ファームウェアが実行するピーク検出はシグナル A だけが対象です。シグナルが複数ある場合は、シグナル A をブロードバンド検出器として設定し、波長の異なるすべてのシグナルについてピークスペクトルを収集できるようにする必要があります。

  - ［**保存**］は、以下のオプションを使用してスペクトル収集モードを制御します。

    ［**なし**］– 保存するスペクトルはありません。

    ［**頂点 + ベースライン**］– ピークの開始点、頂点、終了点の 3 つのスペクトルを収集します。

    ［**頂点 + スロープ + ベースライン**］– ピークの開始点、アップスロープ、頂点、ダウンスロープ、終了点の 5 つのスペクトルを収集します。

    ［**ピーク内全て**］– ピーク内の全てのスペクトルが保存されます。

    ［**全て**］– 分析を通じて全てのスペクトルが保存されます。

    [**2 スペクトル毎**］– 分析を通じて取得したスペクトルが 1 つおきに保存されます。
  - ［**範囲**］– 検出器の 190 nm ～ 640 nm の全範囲にわたって、またはユーザーが指定した限定された範囲にわたって、スペクトルが保存されます。これにより、保存するデータ数を減らすことができます。
  - ［**ステップ**］– スペクトルに保存するデータの間隔（nm）、つまりスペクトルの解像度を制御します。大部分のアプリケーションにおいて、デフォルト設定の 2 nm が優れた選択です。

- [スレッショルド] - この値（mAU）よりも低いピークしか持たないスペクトルは保存しません。

- [詳細設定] - [アナログ出力]

  1260 Infinity DAD は、デジタル入力を装備していないデータシステム用にアナログシグナル出力コネクタを 1 つ備えています。以下のパラメータを設定できます。

  - [ゼロオフセット] は、設定された出力シグナルのパーセンテージにゼロレベルを設定します。これにより、負のドリフトを持つスコープでも処理できるようになります。
  - [アッテネーション] は、設定された吸収率がフル出力となるようにスケーリングします。

- [詳細設定] - [ネガティブ吸収のマージン]

  初期設定は 100 mAU です。これは、検出器が十分なダイナミックレンジを持つことを意味します。ゼロレベルが設定されている場合でも、この値に合わせて測定できます。大きな負のピークを計測するには、または大きな負のドリフトを持つベースラインに従うには、レンジの底部でシグナルが平らになってしまうことを避けるために、この値を下方修正する必要があります。ただし、大きな負の値を受け入れるようにすると、ベースライン ノイズが増加して正のピークを計測するレンジが減少するため、正当な理由がない限り変更しないでください。

- [詳細設定] - [自動バランス] は、すべての波長の吸光レベルをゼロに設定します（つまり、スペクトルのすべてのポイントをゼロと平衡化させます）。これにより、ベースラインシグナルもゼロになります。[プレラン] は、分析を開始する直前に平衡化させるために選択します。これが一般的な選択です。代わりに、ポスト実行時間が経過した後、分析の終了時に平衡化するために、[ポストラン] が選択されることもあります。たとえば、シグナルが常に負のドリフトを示しているため、分析をゼロの吸光率で終了させたいと考えた場合は、このパラメータを設定することによって次回の分析で正しいセロレベルが設定できます。このパラメータは、分析の終了時に行った平衡化を、過去に遡って変更するわけではありません。

- [詳細設定] - [分析時のみランプをオンにする]:1260 Infinity DAD は、UV ランプを 1 つ備えています。分析で必要になる場合は、このボックスにチェックを付ける必要があります。

機器カーブ タブ

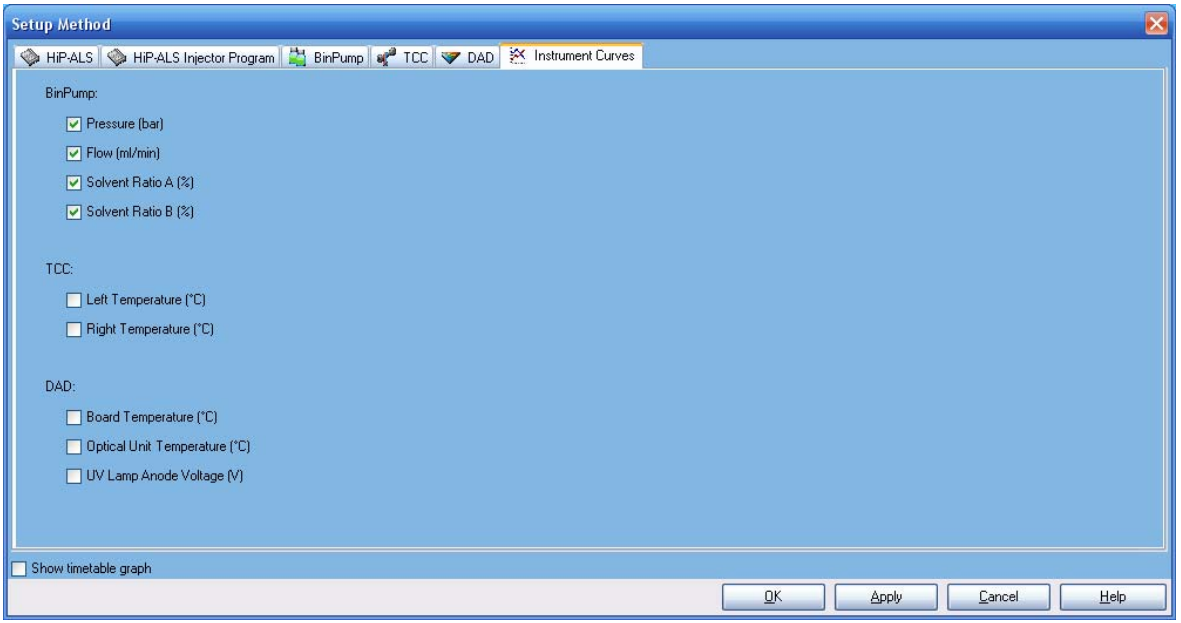


図 30 ［メソッド セットアップ］画面 - ［機器カーブ］タブ

［機器カーブ］タブを使うと、関連ボックスにチェックを付けることによって、検出器シグナル以外の監視対象データストリームをデータと共に保存できます。これは、主として診断目的で使われます。以下のタブがあります。

- ポンプ：
  - 圧力
  - 流量
  - A/B 合成 - クロマトグラムにグラジエントプロファイルを重ね合わせるために役立ちます。
- 温度調節機能付きカラムコンパートメント
  - 左側 / 右側温度
- 検出器：
  - ボード温度
  - オプティカルユニット温度
  - UV ランプ陰極電圧

データ分析

シグナル詳細

メソッド & ランコントロール ビューからは、**シグナル詳細** 画面にも直接アクセスできます。**キャリブレーション** アイコン上の GUI を右クリックして、コンテキストメニュー内の **シグナル詳細** を選択します。[データ分析] ビューでは、**キャリブレーション** > **シグナル詳細** を使ってアクセスできます。

シグナル詳細 画面は、**メソッド全体の編集** の次のステップであり、取得したシグナルのうち、処理対象とするシグナルを [データ分析] に対して通知します。ドロップダウンボックスには、検出器設定で定義された分析シグナルと、温度、流量、混合、圧力、診断トレースのような記録されたパラメータを含む、利用可能なシグナルがリストされます。シグナルを選択し **メソッドに追加** をクリックして、シグナルを画面下部にある **シグナル詳細** テーブルに送信します。取得した検出器シグナルの一部またはすべてを処理対象として選択できます。シグナルを一切選択しなかった場合はテーブルは空です。この場合は、ChemStation はデフォルトとして、取得した検出器シグナルのすべてを処理対象とします。

既存のメソッドを編集して新しいメソッドを作成した場合は、メソッドの実行を試みると、**パラメータ ミスマッチ** エラーが表示されることがあります。この理由は、旧メソッドでは **シグナル詳細** に、特定のシグナル、たとえば、250 nm 、8 nm バンド幅が含まれていたけれども、新メソッドでは、それを、たとえば、254 nm/12 nm に変更してしまったからです。**シグナル詳細** テーブルには、元のシグナルが残っており、取得されることがなくなったシグナルを処理するというメッセージが表示されます。テーブル内の元のシグナルを強調表示し、**行削除** ボタンを押して問題を解決します。

システムが、ダイオードアレイ検出器、質量分析計のように、複数の検出器を使っている場合は、**シグナル説明** の行を使って、下流の検出器のディレイ時間を入力し、ソフトウェアが異なる検出器からのピークを調整できるようにします。

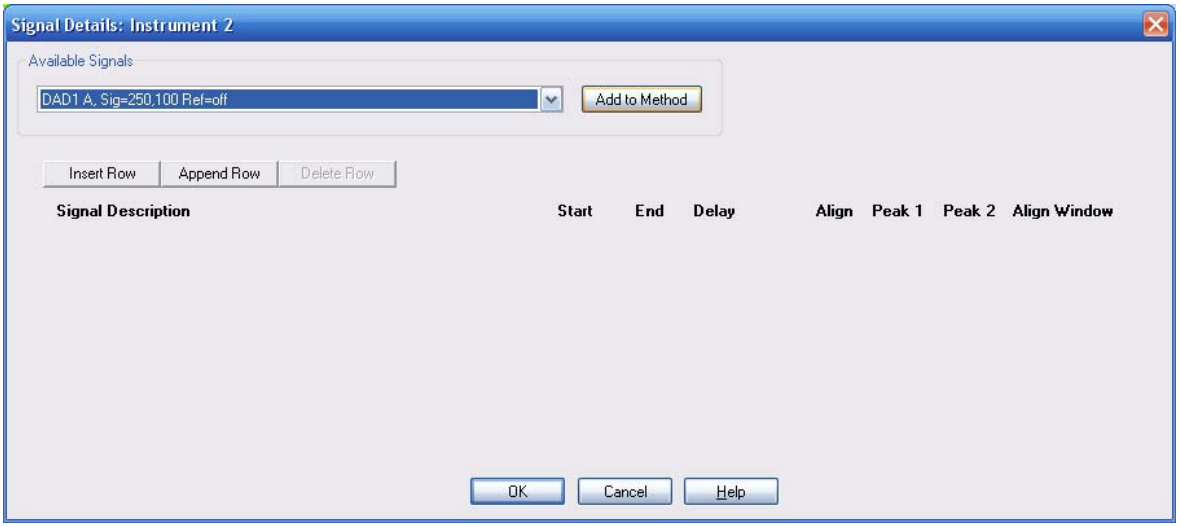

Signal Details: Instrument 2
Available Signals
DAD1 A, Sig=250,100 Ref=off
Add to Method
Insert Row
Append Row
Delete Row
Signal Description
Start
End
Delay
Align
Peak 1
Peak 2
Align Window
OK
Cancel
Help

図 31 シグナル詳細

積分イベントの変更

［積分イベント］アイコン上のグラフィック ユーザー インターフェースを右クリックして、コンテキストメニューの **積分イベントの編集** をクリックすることにより、**メソッド & ランコントロール** ビューからは、**積分イベントの編集** 画面にも直接アクセスできます。**データ分析** ビューでは、**積分** > **積分イベント** . . . メニュー、または **積分イベントの編集** タスクアイコンを使ってアクセスできます。

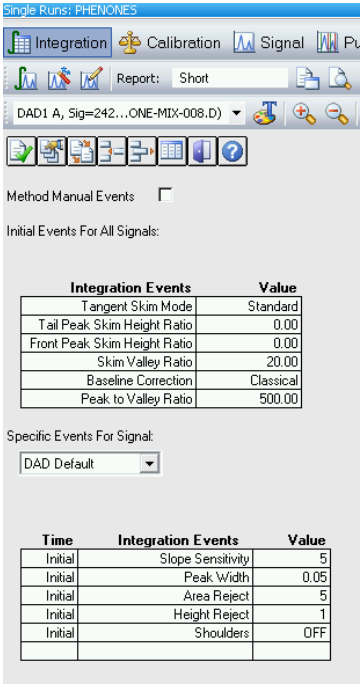


図 32　［積分イベントの編集］画面

積分、キャリブレーション、レポーティングは、メソッドのデータ分析部分です。積分パラメータとキャリブレーションテーブルは、データを取得し、データを［データ分析］ビューでレビューすることで簡単に設定できます。積分イベントはその時点で最適化できます。また、最初の取得の分析では、通常、デフォルトの設定を使います。

積分イベントの編集 画面には、2 つのテーブルがあります。

- **全てのシグナルの初期イベント** は、メソッドで取得するすべてのシグナルに適用されるイベント（積分パラメータ）を含みます。
- **シグナルの特定のイベント** は、1 種類の検出器または同一検出器からの異なるシグナルに固有のイベントを含みます。

  このテーブル内の重要なパラメータは、以下のとおりです。

  - **スロープ感度** は、ピークの開始と終了をマークするのに必要な、ベースラインのスロープと曲率を表わします。
  - **ピーク幅**： 対象のピークの中で最も狭いピークの半分の高さの幅を設定します。これは、インテグレータが、ノイズと非常に小さなピークを区別することを助けます。
  - **面積リジェクト / 高さリジェクト** は、棄却を制御する値です。この値より小さい面積または高さは、ピークの結果からは棄却されます。
  - **積分オフ / オン** は、設定されたリミット間の積分を抑止します。ほとんどの場合、注入から、溶媒の前または保留されていないピークマーカーまでの範囲の積分を禁止するために使われます。

積分オフ / オン のような行は、ウィンドウの最上部にあるアイコンを使って、テーブルに追加します。

OK をクリックして終了すると、［メソッド全体の編集］プロセス内に次の画面が表示されます。

レポート条件

［レポート］アイコン上のグラフィック ユーザー インターフェースを右クリックして、コンテキストメニューの **レポート条件** を選択することにより、**メソッド & ランコントロール** ビューからは、**レポート条件** 画面にも直接アクセスできます。**データ分析** ビューでは、**レポート** > **レポート条件** メニュー、または［レポート条件］タスクアイコンを使ってアクセスできます。

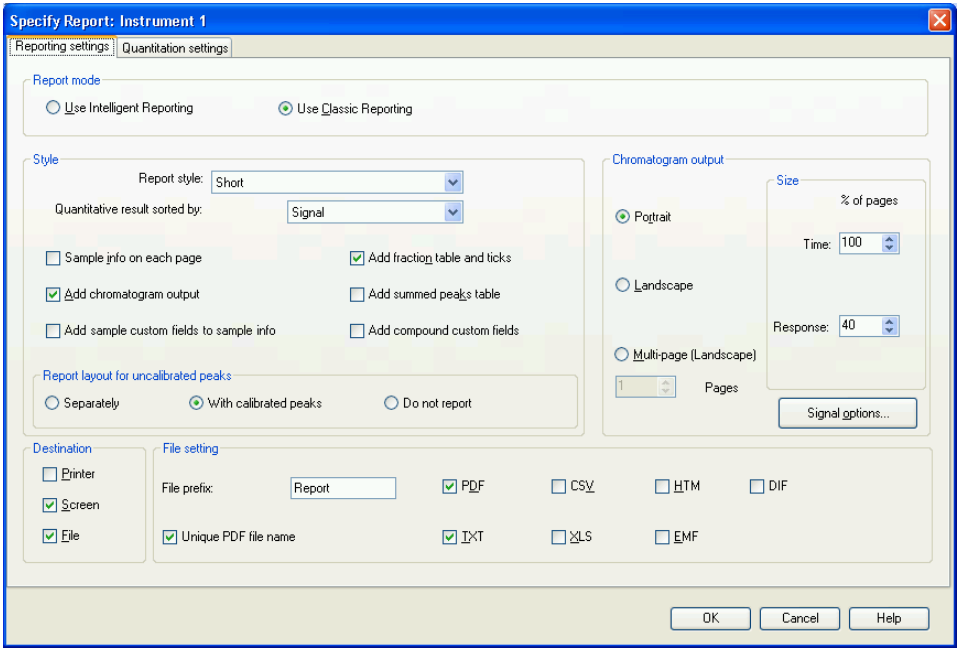


図 33　［レポート条件］画面

プリンタや PDF ファイルに出力するためのクラシックレポートによる単純な 面積 % レポートを設定するには、［レポート条件］画面の以下のセクションに以下の設定を入力します。

レポート設定 タブ：

- **レポートモード**：クラシックレポートを使用する
- **スタイル**
  - **レポート スタイル**：簡易

  - **定量結果の表示順**： シグナル
  - **クロマトグラム出力の追加**： チェックあり
- **クロマトグラム出力**： 縦
- **サイズ**：
  - **時間軸** 100 %/ ページ
  - **レスポンス軸** 40 %/ ページ
- **出力先**
  - **プリンタ**： チェックあり
  - **画面**： チェックなし
  - **ファイル**： チェックあり
- **ファイル設定**：
  - PDF: チェックあり
  - **固有 PDF ファイル名**： チェックあり

定量設定タブ：

- **計算モード**
  - **計算**： パーセント
  - **カウント法**： 面積

OK をクリックして終了すると、［メソッド全体の編集］プロセス内に次の画面が表示されます。

機器カーブ

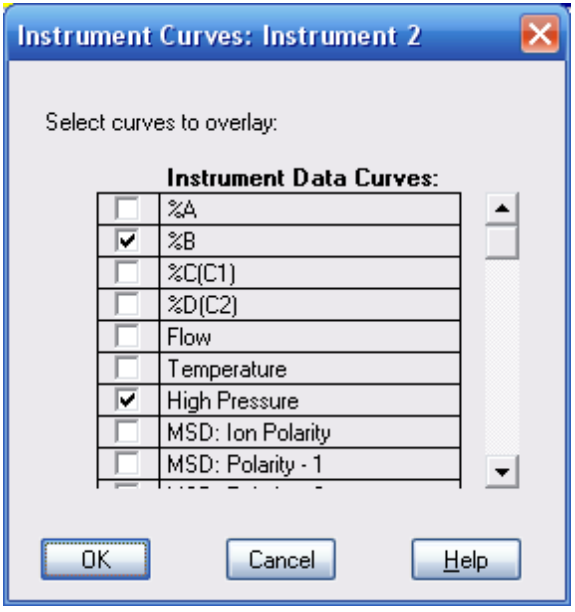


図 34　［機器カーブ］画面

機器カーブ チェックボックスを使うと、クロマトグラムに記録されたパラメータをグラフとして重ねることができます。

ラン タイム チェックリスト

ラン タイム チェックリスト 画面も、**メソッド** > **ラン タイム チェックリスト** メニューから直接、または画面の右上の **ラン タイム チェックリスト** アイコンをクリックすることでアクセスできます。

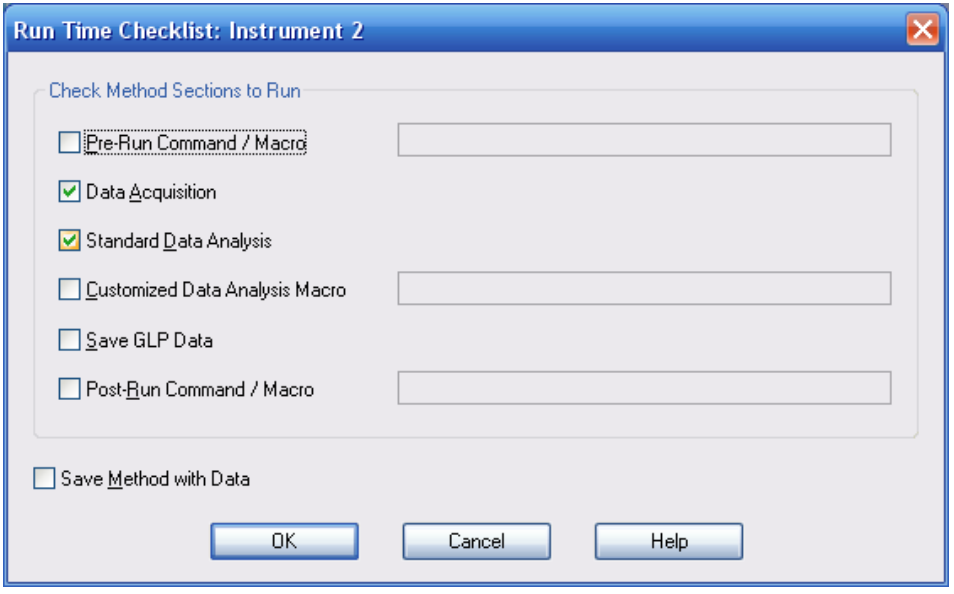


図 35 ［ラン タイム チェックリスト］画面

ラン タイム チェックリスト は、メソッドでデータ収集とデータ分析の両方を実行して、マクロコマンドまたはプログラムをワークフローの各種のポイントにリンクさせるか否かを選択します。多くの場合、**データ収集** と **標準データ解析** チェックボックスにチェックを付けます。たとえば、一連のメソッドを開発しているときのように、データ分析が不要の場合は、**標準データ解析** はチェックを外して、レポートを生成しないようにできます。データは後から **データ分析** ビューを使って表示できます。

マクロプログラム内でアクセスポイントの 1 つにリンクするには、関連ボックスにチェックを付け、右にあるテキストボックスにマクロ名を入力します。ソフトウェアは、C:¥Chem32¥Core ディレクトリ内のマクロを検索します。他の場所にある場合は、パスを含めます。

メソッドのワークフロー内のアクセスポイントは、以下のとおりです。

- **プレランコマンド / マクロ**
- **カスタマイズされたデータ分析マクロ**
- **ポストランコマンド / マクロ**

データファイルにメソッドを保存 は、メソッドのコピーをデータファイル RUN.M に保存します。ChemStation を通常の構成で実行している場合は、この作業は不要です。このソフトウェアによって、このデータファイルが常に保存されているからです（B.02.01 以降のすべてのバージョン）。このオプションが意味を持つのは、たとえば、ChemStation で、**固有シーケンスフォルダの作成** をオフにし、メソッドが自動的にデータファイルにコピーされないようにする設定を行っている場合だけです。

以上のプロセスの中でこの画面が最後の画面です。OK をクリックすると、**ラン タイム チェックリスト** が終了し、**メソッド全体の編集** プロセスが終了します。この段階で、**ファイル** > **名前を付けて保存** > **メソッド** または **メソッドメニュー** > **名前を付けてメソッド保存**を使うと、メソッドはマスターメソッドディレクトリ（デフォルトでは、C:¥Chem32¥1¥Methods）に保存されます。

索引

A

ADVR 50

D

DEF_LC.M 113

P

pH 範囲 24

V

van Deemter 方程式 29

あ

アクティブシールウォッシュ 11
アジレント
　インターネット上 112
圧縮率補正 24
圧力センサ 14
圧力
　動作範囲 24
　脈動 24
アナログシグナル出力 25
安全クラス I 104
安全
　一般的な情報 104
　規格 23
　記号 106

い

インストール
　Lab Advisor 71
　ソフトウェアコントローラ 70
　データシステム 70
インターネット 112

お

オーバーラップ注入 50
オンラインプロット
　構成 87

か

カラム コンパートメント
　説明 17
カラム外デッドボリューム
　説明 41
カラム外ボリューム 40, 40
カラム
　温度調節機能 37
　温度 37
　サブ 2 マイクロンの粒子 34
カラム再生を交互に行う 49
カラムの詰まり
　回避 66
カルキュレータ
　コスト 34
緩衝液 11
感度
　機器コンフィグレーション 62
　最適化 61

き

機器 / 測定条件 114
機器メソッドの設定 116
キャリーオーバ 51, 52

く

クイックスタートガイド
　概要 84
グラジエント組成 25

け

検出器
　感度を向上させる 63

こ

高圧混合 11
構成
　オンラインプロット 87
コントロールアセンブリ 14
コントロールおよびデータ評価 25
コンフィグレーション
　中ディレイボリューム 44
　低ディレイボリューム 43

標準ディレイボリューム 45

さ

サイクルタイム
機器コンフィグレーション 49
最適化
HPLC の条件 31
カラムの使用 63
クロマトグラフィの分離性能 31
検出器の感度 63
高感度の達成 61
高分離能の達成 54
注入量 47
フロー セル 64
最適なコンフィグレーション
内径が 2.1 mm のカラム 43
内径が 3 および 4 mm のカラム 45
サブ 2 マイクロンの粒子 34

し

システムコンポーネント
カラム コンパートメント 17
ダイオードアレイ検出器 19
システム
オンにする 85
システムの設定とインストール
ネットワーク統合 72
湿度 23
質量 23
自動ディレイボリューム削減 50
周波数範囲 23
使用温度 23
使用高度 23
使用周囲温度 23
消費電力 23
仕様
アナログシグナル出力 25
コントロールとデータ評価 25
性能 24
通信 25
物理的 23
真空ポンプ 14

す

推奨 pH 範囲 24
寸法 23

せ

性能
仕様 24
積分イベント テーブル 100
積分 100
設計 11
設定可能な流量範囲 24

そ

操作の原則 14
組成真度 25
組成精度 25
組成範囲 25

た

ダイオードアレイ検出器
説明 19

ち

中ディレイボリュームコンフィグレーション 44
注入量
ボリュームを増加させる 47

て

低ディレイボリュームコンフィグレーション 43
ディレイボリューム 25, 40, 40
自動切替 42
説明 40
例 40
データ
分析 98
データ評価とコントロール 25

で

データ分析 114

て

デガッサ 26
デガッサの概要 14
デュアルピストン直列型設計 11

で

電圧範囲 23

て

電源周波数 23

に

入力電圧 23

ね

ネットワーク統合 72

は

パージ 89
ハイドロリック システム 24
バイナリポンプ 11

ひ

標準ディレイボリュームコンフィグレーション 45

ぶ

物理的仕様 23

ふ

プライミング
  ポンプ使用時 80
フロー セル 64
分解能の最適化
  カラム外デッドボリューム 58
  カラムコンパートメント 57
  クロマトグラフ条件 60
  データレート 59
分解能 32, 36
分析
  データ 98
分離能
  向上 54
  最適化 54

ほ

保管温度 23
保管高度 23
保管周囲温度 23
保持係数 32
補正、圧縮率 24

ま

摩擦熱 37

み

ミキサー 11

め

メソッド情報 114, 115
メソッド
  シングル注入 96
  設定 94
  デフォルト 113
  メソッド全体の編集 113

よ

溶媒、変更 81
溶媒切り替えバルブ 11
溶媒の変更 81
読み込み
  デフォルト 86

ら

ラン タイム チェックリスト 114

り

流量真度 24
流量精度 24
流量範囲 11
  運転可能な 24
  設定可能な 24

れ

レポート
  仕様 101

ろ

理論段数 32

www.agilent.com

本書の内容

本書には、Agilent 1260 Infinity バイナリ LC に関する情報が記載されています。

本書では、以下の項目について説明します。

- 製品の説明
- 概要
- 仕様
- システムの最適化
- システム設定と設置
- クイックスタートガイド

© Agilent Technologies 2006, 2008-2011, 2013

Printed in Germany
02/2013

G1312-96303

Agilent Technologies